

mv&z

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO • ISSN 2179-6645 • VOL 10 • Nº 2 e 3 • 2012

REVISTA DE EDUCAÇÃO
CONTINUADA EM
MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA

CONTINUOUS EDUCATION JOURNAL IN
VETERINARY MEDICINE AND ZOOTECNHY



XXIII RITA

Reunião Internacional da
Raiva nas Américas 2012

SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA

Artigo mostra uma revisão
atualizada sobre a infecção
de seres humanos pelo
bacilo da Tuberculose bovina
(*Mycobacterium bovis*)

AQUICULTURA

Ensaio aborda a gestão participativa no comércio de animais aquáticos ornamentais a partir de workshop promovido pelo CRMV-SP

Dados internacionais de catalogação na publicação

Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Publicação do Conselho Regional de Medicina Veterinária. – v. 10, n. 2 e 3 (2012) –. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, 1998 – v. : il. ; 28 cm.

Quadrimestral
Continuação de: Revista de Educação Continuada do CRMV-SP, São Paulo, v. 8, n. 2 (2005).
ISSN 2179-6645

1. Medicina veterinária. I. Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo.

Deusa mitológica cercada de animais. Ilustração de Ike Motta baseada no original da Escola de Medicina Veterinária de São Paulo F. Ranzini – 1930



EX LIBRIS



CRMV-SP

5 Corpo de revisores

AQUICULTURA

6 Gestão participativa no comércio de animais aquáticos ornamentais

SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA

16 A importância da Aquicultura para a saúde pública

22 *Mycobacterium Bovis* como agente causal da Tuberculose humana

GRANDES ANIMAIS – EQUINOS

32 Avaliação do perfil celular do colostro de éguas: estudo preliminar

RESUMOS

XXIII RITA

37 Reunião Internacional da Raiva nas Américas 2012

107 Normas para publicação

Uma publicação



Foto: Ricardo Paiva Rio



CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO – CRMV-SP

DIRETORIA EXECUTIVA

- Presidente** Méd. Vet. Francisco Cavalcanti de Almeida
- Vice-presidente** Méd. Vet. Mário Eduardo Pulga
- Secretário Geral** Méd. Vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
- Tesoureira** Méd. Vet. Eliana Kobayashi
- Conselheiros Efetivos** Méd. Vet. Carlos Maurício Leal
Méd. Vet. Cláudio Regis Depes
Méd. Vet. Márcio Rangel de Mello
Méd. Vet. Otávio Diniz
Méd. Vet. Antônio Guilherme Machado de Castro
Méd. Vet. José Rafael Modolo
- Conselheiros Suplentes** Méd. Vet. Abrahão Buchatsky
Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey
Méd. Vet. Fábio Fernando Ribeiro Manhoso
Méd. Vet. José Antônio Visintin
Méd. Vet. Mítika Kuribayashi Hagiwara
Méd. Vet. Yves Miceli de Carvalho

DELEGACIAS

- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Araçatuba** Rua Oscar Rodrigues Alves, 55, 7º andar, sl. 12
Fone: (18) 3622-6156 | Fax: (18) 3622 8520
dr.aracatuba@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Botucatu** Rua Amando de Barros, 1.040
Fone/Fax: (14) 3815 6839
dr.botucatu@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Campinas** Av. Dr. Campos Sales, 532, sl. 23
Fone: (19) 3236 2447 | Fax: (19) 3236 2447
dr.campinas@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Marília** Av. Rio Branco, 936, 7º andar
Fone/Fax: (14) 3422 5011
e-mail: dr.marilia@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Presidente Prudente** Av. Cel. José Soares Marcondes, 983, sl. 61
Fone: (18) 3221 4303 | Fax: (18) 3223 4218
dr.prudente@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Ribeirão Preto** Rua Visconde de Inhaúma, 490, cj. 306 a 308
Fone/Fax: (16) 3636 8771
dr.ribeirao@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Santos** Av. Almirante Cochrane, 194, cj. 52
Fone/Fax: (13) 3227 6395
dr.santos@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – São José do Rio Preto** Rua Marechal Deodoro, 3.011, 8º andar
Fone/Fax: (17) 3235 1045
dr.riopreto@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Sorocaba** Rua Sete de Setembro, 287, 16º andar, cj.165
Fone/Fax: (15) 3224 2197
dr.sorocaba@crmvsp.gov.br
- Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Taubaté** Rua Jacques Felix, 615
Fone: (12) 3632 2188 | Fax: (12) 3622 7560
dr.taubate@crmvsp.gov.br

REVISTA DE EDUCAÇÃO CONTINUADA EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONSELHO EDITORIAL

- Editor científico** Méd. Vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
- Editores associados** Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey
Méd. Vet. José Cezar Panetta
Méd. Vet. Eduardo Harry Birgel
(Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet)

COMISSÃO EDITORIAL

- Presidente** Méd. Vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
Méd. Vet. José Rafael Modolo
Méd. Vet. Mário Eduardo Pulga
Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey

CORPO EDITORIAL AD HOC

- Méd. Vet. Agar Costa Alexandrino de Perez
- Méd. Vet. Antônio Carlos Paes
- Méd. Vet. Arsênio Baptista
- Méd. Vet. Carla Bargi Belli
- Méd. Vet. Cláudia Fernandes
- Méd. Vet. José de Angelis Côrtes
- Méd. Vet. Sílvio Arruda Vasconcellos

Assessoria de Comunicação

- Editor Responsável** Méd. Vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
- Jornalista Responsável** Adrielly Reis – MTB: 62.540/SP

Sede do CRMV-SP

- Rua Apeninos, 1088, Paraíso – São Paulo (SP)
- Fone: (11) 5908 4799
- Fax: (11) 5084 4907
- www.crmvsp.gov.br

Revisão Técnica

- Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet
- Projeto Gráfico** Plínio Fernandes – Traço Leal
- Diagramação** TL Publicidade e Assessoria Ltda Me
- Impressão** Companhia Lithographica Ypiranga
- Periodicidade** quadrimestral
- Tiragem** 25.500 exemplares

Distribuição gratuita

Colegas,



Fale conosco

comunicacao@crmvsp.gov.br

A cada nova edição da Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia, aumenta a certeza de que o Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo está trilhando o caminho certo para o aprimoramento do conhecimento técnico dos médicos veterinários e zootecnistas.

Enquanto presidente desta entidade de classe, agradeço aos profissionais que colaboraram com a nossa publicação, submetendo os artigos que foram analisados pelo seletivo corpo de revisores, constituído por renomados profissionais – os quais, com suas críticas e sugestões, têm contribuído significativamente para garantir a qualidade dos artigos publicados; e também a todos os que nos têm escrito, demonstrando interesse pelo nosso trabalho.

Com o objetivo de consolidar a situação já atingida e buscar sempre o aprimoramento contínuo, nossa revista oferece temas cada vez mais atuais e pertinentes à rotina dos profissionais. Nesta edição, na seção de Aquicultura, é abordado um assunto que vem ganhando

notoriedade: o comércio de peixes ornamentais; na área Saúde Pública Veterinária, são apresentados dois artigos: uma análise da importância da aquicultura para a saúde pública e uma revisão atualizada sobre a infecção de seres humanos pelo bacilo da Tuberculose bovina (*Mycobacterium bovis*). Em Grandes Animais, é analisado o perfil celular do colostro de éguas.

Para manter o perfil de ampliar a divulgação de trabalhos apresentados em eventos científicos, nesta edição são publicados os resumos dos trabalhos apresentados no evento de grande importância para a Saúde Pública Veterinária: a XXIII Reunião Internacional da Raiva nas Américas (RITA).

Desejo ao colega uma ótima leitura e resalto que a revista está sempre aberta a receber as suas críticas e sugestões. Fique à vontade para nos enviar os seus trabalhos.

○ Conselho é de todos!

Francisco Cavalcanti de Almeida
Presidente do CRMV-SP

CORPO DE REVISORES

Adriana Maria Lopes Vieira, CRMV-SP
Agar Costa Alexandrino de Perez, CRMV-SP
Alexandre Jacques Louis Develey, Apamvet
Ana Paula de Araújo, CRMV-SP
Antonio Carlos Paes, FMVZ-Unesp Botucatu
Antônio Guilherme Machado de Castro, CRMV-SP
Antonio J. Piantino Ferreira, FMVZ-USP
Arani Nanci Bomfim Mariana, Apamvet
Archivaldo Reche Junior, FMVZ-USP
Arsênio Caldeira Baptista Junior, méd. vet. autônomo
Carla Bargi Belli, FMVZ-USP
Carlos Alberto Hussni, FMVZ-Unesp Botucatu
Carlos Eduardo Larsson, Apamvet
Célia Regina Orlandelli Carrer, CRMV-SP
Ceres Berger Faraco, Amvebbea
Cláudia Barbosa Fernandes, FMVZ-USP
Cláudio Ronaldo Pedro, CRMV-SP
Édson Ramos de Siqueira, FMVZ-Unesp Botucatu
Eduardo Harry Birgel, Apamvet
Eduardo Harry Birgel Junior, FZEA-USP
Eliana Kobayashi, CRMV-SP
Eliana Roxo, Instituto Biológico
Éverton Fernandes, UFG

Fábio Fernando Ribeiro Manhoso, UNIMAR – SP
Fernando José Benesi, FMVZ-USP
Flávio Massone, FMVZ-Unesp Botucatu
Fumio Honma Ito, FMVZ-USP
Helenice de Souza Spinosa, FMVZ-USP
Henrique Luis Tavares, CRMV-SP
João Palermo Neto, FMVZ-USP
John Furlong, Embrapa
José Antônio Vincentin, FMVZ-USP
José de Angelis Côrtes, Apamvet
José Henrique Ferreira Musumeci, méd. vet. autônomo
José Rafael Modolo, FMVZ-Unesp Botucatu
Joseite Garcia Bersano, Instituto Biológico
Júlia Maria Matera, FMVZ-USP
Karime Cury Scarpelli, CRMV-SP
Luiz Cláudio Lopes Correa da Silva, FMVZ-USP
Luiz Carlos Vulcano, FMVZ-Unesp Botucatu
Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, FMVZ-USP
Marcelo Bahia Labruna, FMVZ-USP
Marcelo da Silva Gomes, CRMV-SP
Márcio Corrêa, UFPEL
Márcio Gárcia Ribeiro, FMVZ-Unesp Botucatu
Márcio Rangel de Melo, CRMV-SP

Marcos Veiga dos Santos, FMVZ-USP
Maria Angélica Miglino, FMVZ-USP
Maria de Lourdes A. Bonadia Reichmann, CRMV-SP
Mario Eduardo Pulga, CRMV-SP
Maristela Pituco, Instituto Biológico
Mitika Kuribayashi Hagiwara, FMVZ-USP
Nádia Maria Bueno Fernandes Dias, CRMV-SP
Nilson Roberti Benites, FMVZ-USP
Odemilson Mossero, MAPA
Paulo Marcelo Tavares Ribeiro, CRMV-SP
Raimundo de Souza Lopes, FMVZ-Unesp Botucatu
Rita de Cássia Maria Garcia, CRMV-SP
Roberto Calderon Gonçalves, FMVZ-Unesp Botucatu
Roberto de Oliveira Roça, FMVZ-Unesp Botucatu
Sílvia Arruda Vasconcelos, CRMV-SP
Sonia Regina Pinheiro, FMVZ-USP
Sony Dimas Bicudo, FMVZ-Unesp Botucatu
Stélio Pacca Loureiro Luna, FMVZ-Unesp Botucatu
Terezinha Knöbl, FMVZ-USP
Vicente Borelli, Apamvet
Waldir Gandolfi, Apamvet
Wilson Roberto Fernandes, FMVZ-USP

Gestão participativa no comércio de animais aquáticos ornamentais (ensaio)

Participatory management in trade of ornamental aquatic animals

Resumo

Há tempos existem lacunas na pesca e aquicultura ornamental em sua legislação ambiental e sanitária. Com o objetivo de abrir um canal de diálogo entre as instituições públicas e os representantes do setor foi realizado nos dias 28 e 29 de junho de 2011 no CRMV-SP o "I Workshop de Gestão Participativa no Comércio de Peixes Ornamentais". Foram expostas as principais dificuldades do setor e a partir dos debates foi produzida uma moção, encaminhada aos participantes e às instituições. Acreditamos que estas iniciativas colaboram para o bom desenvolvimento do setor, considerando que todos têm como objetivos o bem estar dos animais, a saúde pública e a conservação do meio ambiente.

Summary

For a long time ornamental fishery and aquaculture laws were not made to address environmental and health matters. Aiming to open a channel of dialogue between public institutions and industry representatives, was conducted the "I Workshop in Participative Management in the Ornamental Fishery Sector" was held at CRMV-SP on June 28 and 29, 2011. The greatest difficulty of the sector were exposed and at the end of the meeting, a document was produced and sent to the participants with the main topics that were brought up during the Workshop. We believe that this initiative contributed to good development of the sector, with the animal welfare, the public health and the environment conservation.

Ana Paula de Araujo¹
Felipe Weber Mendonça Santos²
Sheila Pincinato³
Jeanne Gomes da Silva⁴

Membro da Comissão Técnica de Aquicultura do Conselho Regional de Medicina Veterinária e Zootecnia do Estado de São Paulo / CRMV-SP
Rua Vieira de Morais, 1201, Campo Belo
04617-014 – São Paulo, SP.
☎ +55 11 9-9291-4143
✉ anapaula@acquapiscis.com.br.



Palavras-chave

Aquariofilia. Regulamentação. Sanidade. Gestão participativa.

Keywords

Aquariophily. Regulation. Sanity. Participatory management.

No Brasil a atividade de aquariofilia surgiu no Rio de Janeiro em 1922 durante a realização da Exposição da Independência nos pavilhões construídos pelo Governo Federal, transferida para a antiga Universidade do Brasil a partir da década de 1980 (LIMA; BERNARDINO; PROENÇA, 2001).

A produção de peixes ornamentais marinhos e continentais é considerada um rentável agronegócio. No Brasil, uma piscicultura ornamental bem administrada, com sistema intensivo em tanques de pequeno volume em ambiente controlado, pode gerar uma receita bruta de R\$ 30.000,00 por hectare, com base em dados de produção de *Betta splendens* (RIBEIRO, 2008).

Atualmente o setor de aquicultura e comércio de organismos aquáticos com fins ornamentais e de aquariofilia é um setor que movimenta milhões de dólares anualmente, tendo a pesca extrativista continental e marinha predominante na região norte e nordeste respectivamente. A região sudeste caracteriza-se por ser um pólo de importação de organismos aquáticos e de insumos para a cadeia produtiva, sendo também representativo em termos de aquiculturas,

1 Médica Veterinária. Acquapiscis Consultoria e Medicina Veterinária em Aquicultura. Membro da Comissão Técnica de Aquicultura do Conselho Regional de Medicina Veterinária e Zootecnia do Estado de São Paulo / CRMV-SP.

2 Engenheiro de Aquicultura. Coordenador de Registro e Licenças da Pesca Artesanal, Ornamental e Industrial / CGRPC / SEMOC / Ministério da Pesca e Aquicultura / MPA.

3 Médica Veterinária. Assessoria Técnica Médico-Veterinária / CRMV-SP.

4 Engenheira de Pesca. Chefe de Divisão da Coordenação de Planejamento e Ordenamento da Pesca Artesanal Continental / CGPAC – Secretaria de Planejamento e Ordenamento da Pesca / SEPOP / Ministério da Pesca e Aquicultura / MPA.

com destaque para o Estado de Minas Gerais, especificamente o município de Muriaé (VIDAL, 2002).

Segundo estatísticas do IBAMA, em 2007 só o estado do Amazonas exportou US\$ 3.829.085,65 em peixes ornamentais continentais, sendo o total de exportações brasileiras de US\$ 6.000.846,37 neste mesmo ano.

A atividade pesqueira no Brasil tem historicamente uma trajetória complexa, pois sua regulamentação passou por diversas alterações nas atribuições públicas ao longo das últimas décadas. O desenvolvimento da aquicultura neste cenário é recente, assim como a organização do setor e elaboração de legislação sanitária e ambiental que o contemple, como, por exemplo, a obrigatoriedade de quarentena em importações, regulamentada pela Instrução Normativa/IN nº 18 de 13/05/2008 do MAPA (BRASIL, 2008), sendo que as Licenças de Operação atualmente são concedidas através de vistorias realizadas pelo MPA. Porém muitos outros aspectos de sua regulamentação, por meio de legislações específicas, ainda não foram contemplados ou são dificultados, como as questões envolvendo a comercialização dos invertebrados ornamentais nativos, as licenças ambientais, a aquicultura de espécies nativas, etc.

Atualmente no Brasil, muitos estabelecimentos de comércio varejista e de produção de organismos aquáticos ornamentais atuam de maneira informal, principalmente em função das dificuldades na obtenção de licenças ambientais, somando-se ao fato de que, até o momento, existem poucos profissionais atuando nesta área. Isso também se relaciona ao fato de durante muito tempo a aquicultura ter sido um segmento em saúde animal pouco contemplado pela medicina veterinária e zootecnia, em relação aos avanços em áreas como, por exemplo, clínica de pequenos animais ou produção pecuária bovina, suína ou de aves (ARAUJO; PÉREZ, 2005).

A demanda por invertebrados aquáticos, característica deste mercado, o torna mais complexo, visto que estes animais possuem pouca expressão dentro das atividades de pesquisa em nível nacional e internacional. Neste caso, atualmente a legislação brasileira permite sua importação, porém o extrativismo e o cultivo de espécies aquáticas nativas ainda não foram regulamentados (IBAMA, 2007; RIBEIRO; LIMA; FERNANDES, 2010).

Estes pontos têm reflexos em diversos âmbitos que cercam a aquicultura, como na solicitação de licenças para captura de matrizes para reprodução, na pouca disponibilidade de terapêuticos e imunoestimulantes, na formulação de protocolos de manejo e de medidas de biossegurança, nas escassas produções bibliográficas em manejo, patologia e fisiologia de espécies aquáticas nativas e também nos poucos diagnósticos das doenças existentes em relação a outras espécies de produção com fins alimentares.

O uso de drogas terapêuticas em peixes é dificultado em função da farmacocinética em cada espécie e pela questão dos resíduos para o consumo humano, pouco estudado nas espécies aquáticas nativas, entre outros fatores. Estas questões atualmente não estão esclarecidas no cenário nacional, porém o uso de terapêuticos nesta atividade é uma necessidade antiga e real, sendo muitas vezes executado de forma empírica e clandestina, pois atualmente no Brasil existe apenas um medicamento registrado para uso em peixes (BRASIL/MAPA, 2009).

Neste panorama, deve ser considerado que na cadeia produtiva e de distribuição de animais aquáticos ornamentais, existem peculiaridades que os distinguem do mercado de peixes de corte que devem ser consideradas e são apresentadas no quadro 1.

A legislação sanitária e ambiental relacionada aos animais aquáticos deve contemplar algumas destas peculiaridades inerentes às finalidades dos animais. Mas por outro lado, epidemiologicamente, um peixe ornamental doente introduzido em uma aquicultura oferece o mesmo risco que um peixe de corte doente introduzido num plantel, quando considerado o trânsito e a produção em zona rural.

Para auxiliar no processo de legalização dos aquicultores brasileiros, o MPA publicou a IN nº 06/2011 (BRASIL, 2011), que trouxe os novos procedimentos do Registro Geral da Atividade Pesqueira- RGP, na categoria Aquicultor. Com a publicação desta norma, o MPA passou a ser a porta de entrada do aquicultor no processo de legalização, onde o interessado, antes de buscar o órgão ambiental Estadual responsável pelo Licenciamento Ambiental, realiza o Registro de Aquicultor *on-line* (www.mpa.gov.br). Após isso, o interessado solicita sua Licença Ambiental no órgão competente no seu Estado. Após a emissão desta, retorna a plataforma de Registro do MPA para ingressar os dados de sua Licença Ambiental para emissão da Licença de Aquicultor. Essas modificações realizadas foram de suma importância, pois o MPA passou a acompanhar o processo de legalização junto aos órgãos ambientais Estaduais, sendo que mensalmente é emitido relatório com o número de registros e licenças emitidas, permitindo ao MPA iniciar um diálogo com os órgãos ambientais Estaduais a fim de estimular a legalização da atividade aquícola.

A divisão de responsabilidades e de ações entre governo e sociedade tem possibilitado a construção de um novo espaço público, permitindo um novo papel a ser exercido pelos movimentos oriundos da sociedade civil. Isso porque os diversos segmentos e reorganizações sociais passam a fazer parte na definição da agenda do governo, direcionando as ações a serem priorizadas, tendo em vista uma maior adequação entre demandas sociais e políticas públicas (CRUZ, 2008).

	PEIXES DE CORTE	PEIXES ORNAMENTAIS
Finalidade	<ul style="list-style-type: none"> • Alimento humano e ração animal. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mascotes, lazer.
Origem	<ul style="list-style-type: none"> • Reproduzidos em cativeiro. • Nacionais. 	<ul style="list-style-type: none"> • Selvagens (pesca) ou reproduzidos em cativeiro. • Importados ou nacionais.
Tipo de comercialização	<ul style="list-style-type: none"> • Comercializados em lotes ou milheiros. 	<ul style="list-style-type: none"> • Comercializados individualmente no varejo.
Natureza das espécies	<ul style="list-style-type: none"> • Predominantemente exóticos 	<ul style="list-style-type: none"> • Nativos e exóticos.
Localização	<ul style="list-style-type: none"> • Presentes em área rural. 	<ul style="list-style-type: none"> • Presentes principalmente em zonas urbanas.
Regulamentação	<ul style="list-style-type: none"> • Escassa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Escassa.
Importação	<ul style="list-style-type: none"> • Dificultada. 	<ul style="list-style-type: none"> • Permitida.
Abastecimento de água	<ul style="list-style-type: none"> • Corpos d'água naturais. 	<ul style="list-style-type: none"> • Rede pública em lojas. • Corpos d'água naturais (área rural).
Descarte da água	<ul style="list-style-type: none"> • Corpos d'água naturais. 	<ul style="list-style-type: none"> • Rede pública de esgoto. • Corpos d'água naturais.
Tratamento da água	<ul style="list-style-type: none"> • Esporádico. 	<ul style="list-style-type: none"> • Frequente em rede pública.
Presença de invertebrados com interesse comercial	<ul style="list-style-type: none"> • Apenas em sistemas consorciados (carcinocultura). 	<ul style="list-style-type: none"> • Presente.
Fluxo de água	<ul style="list-style-type: none"> • Contínuo da maioria das vezes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sistemas fechados (recirculação).
Uso de drogas	<ul style="list-style-type: none"> • Presente. 	<ul style="list-style-type: none"> • Presente.

QUADRO 1 – Características do mercado peixes ornamentais e do mercado de peixes de corte oriundos de piscicultura

Objetivos

O objetivo deste trabalho foi abrir um canal de diálogo entre representantes do mercado de animais aquáticos ornamentais no Estado de São Paulo e representantes dos órgãos reguladores desta cadeia produtiva, de forma que todos pudessem expor suas demandas e justificativas, assim como aumentar sua participação nas decisões da esfera pública em busca de um entendimento comum. Também teve a finalidade de produzir um documento para ser encaminhado formalmente àquelas instituições da esfera pública, acordado pela maioria e contendo as principais demandas e determinadas proposições elaboradas durante o *workshop*.

Métodos

Houve duas etapas nos processos de discussão. Na primeira etapa foram realizadas três reuniões na sede do CRMV-SP. Nas oportunidades, com a presença do Presidente do CRMV-SP, compareceram duas associações representativas do setor de aquarofilia no Estado de São Paulo – a Associação Brasileira de Lojas de Aquarofilia – ABLA, e Associação Brasileira de Aquaristas – ABRAQUA, além da Comissão Técnica de Aquicultura e a Comissão de Responsabilidade Técnica do CRMV-SP. Nesta etapa foram levantadas as principais dificuldades e demandas do setor, principalmente no que concerne à legislação sanitária e ambiental que

regula a atividade de aquicultura e comércio de animais aquáticos ornamentais.

Na segunda etapa realizou-se o *workshop* “Gestão Participativa do Comércio de Peixes Ornamentais”, que ocorreu nos dias 28 e 29 de junho de 2011, na sede do CRMV-SP. Neste evento os participantes da mesa, composta pela ABLA, ABRAQUA, Instituições Reguladoras (MAPA, MPA, IBAMA, CRMV-SP e Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo – SAA-SP), além de aquicultores, lojistas, pesquisadores e profissionais autônomos.

No primeiro dia do *workshop* foram realizadas apresentações que abordaram assuntos como as principais demandas do setor de comércio, dados atualizados das exportações e importações de organismos aquáticos com fins ornamentais no Brasil, epidemiologia em peixes, zoonoses transmitidas por peixes ornamentais, o papel do Responsável Técnico e sua formação profissional para atuar no mercado, as dificuldades nos processos de importação e exportação e toda a legislação ambiental e sanitária que envolve a atividade.

No segundo dia os participantes foram divididos em dois grupos, onde um grupo discutiu a respeito das questões de ordem sanitária e o outro as questões de ordem ambiental. Os grupos elaboraram proposições para cada demanda, sendo então apresentadas aos demais participantes para aprovação e finalização do documento.



Mandarim azul (*Synchiropus splendidus*). Origem: Pacífico ocidental

Resultados

Em decorrência das proposições elaboradas foi gerada uma moção contendo as proposições e o histórico do evento, que foi encaminhada pelo CRMV-SP através do ofício nº 0429/2011/ATMV/SP 29/07/2011 (SÃO PAULO, 2011) aos órgãos competentes em 16/08/2011. O referido ofício foi respondido pelo MPA também através dos ofícios nº 272/2011 da Secretaria de Monitoramento e Controle/SEMOC/MPA de 21/10/2011 e nº 50/2011 da Coordenação Geral de Registro de Aquicultura/CGRA/Departamento de Registro da Pesca e Aquicultura/DRPA/SEMOC/MPA de 26/10/2011 (BRASIL, 2011). Abaixo se encontram os temas debatidos, as proposições sugeridas durante o encontro e as manifestações do MPA.

- Tema 1 – Guia de Trânsito Animal – GTA / Guia de Trânsito de Peixes Ornamentais – GTPON. **Motivo:** A obrigatoriedade do uso de duas guias de trânsito – uma com informações de interesse sanitário (BRASIL/MAPA, IN. nº 18/2006) e outra com informações de interesse ambiental (IBAMA, IN. nº 89/2006) atrasa os trâmites de transporte. **Proposição:** Foi proposto que haja uma unificação das Guias, onde informações de ambas as naturezas estivessem contempladas num único documento com vias para ambos os órgãos requisitantes. **Manifestação do MPA:** Quanto a isso, o MPA explanou que atualmente está em discussão o Programa Nacional de Sanidade de Animais

Aquáticos, e manifestou ser viável otimização de ações regulatórias que atendam ao MPA e ao IBAMA.

- Tema 2- Morosidade na liberação de cargas para importação e exportação de animais aquáticos ornamentais no aeroporto. **Motivo:** Por motivos de horários de voos e ordem das cargas recebidas nos terminais, muitas vezes os animais importados não são liberados no dia da chegada. Porém para estes animais, que muitas vezes vêm de lugares longínquos como países asiáticos, o tempo de permanência embalados pode ser crucial para a higidez e sobrevivência dos animais, visto que estes estão limitados de oxigênio e água de boa qualidade. No processo de liberação de cargas diversos órgãos estão envolvidos, como MAPA, IBAMA, Empresa Brasileira de Infraestrutura Aeroportuária – INFRAERO e Receita Federal, e para cada um deles foi proposta uma sugestão. **Proposições:** Ao MAPA e ao MPA foi proposta a possibilidade de agendamento das cargas e a presença de uma equipe maior e bem treinada para o atendimento. À INFRAERO e à Receita Federal, na ausência de representantes, as questões relacionadas foram encaminhadas pelo representante da Comissão de Clientes do MAPA. A proposta foi a priorização do desembarço das cargas vivas (LI antecipada) e o registro antecipado de carga em trânsito, já previsto na IN. nº 680/2006 da Secretaria da Receita

Federal (BRASIL, 2006). O MPA se manifestou como favorável ao desenvolvimento de estratégias para flexibilizar a operacionalização do trânsito desde que cumpra a legislação em vigência. Também sugeriu que procedimentos para os referidos casos sejam apresentados pela Coordenação Geral de Vigilância Agropecuária – VIGIAGRO/DAS aos importadores e exportadores de peixes ornamentais.

- Tema 3 – Quarentena. **Motivos:** A quarentena durante a importação de peixes ornamentais foi um tema bastante discutido, e apresentou-se com certa rejeição por parte dos representantes do mercado, que em muitos casos a utilizam por obrigação legal. Foi exposto pelos representantes do mercado que há diferenças no rigor de fiscalização sanitária por parte do órgão competente (MPA) em diferentes Estados da Federação, o que, de acordo com os mesmos, é injusto para aqueles que seguem rigorosamente as normas estabelecidas. Neste sentido foi exposto aos participantes sua importância como uma ferramenta de proteção sanitária ao seu estabelecimento, ao seu mercado e à sanidade aquícola geral. **Proposição:** Foi definido que se cumpra a padronização de métodos para a fiscalização entre os diferentes Estados da Federação. **Manifestação do MPA:** O MPA esclareceu estar montando um cronograma de fiscalização *in loco* a todas as unidades de quarentena credenciadas, estabelecido para o final de 2011 e início de 2012, objetivando o alinhamento das exigências para o credenciamento das unidades quarentenárias em conformidade com a legislação.
- Tema 4 – Responsabilidade Técnica sanitária nos estabelecimentos. **Motivos:** Os estabelecimentos de aquicultura no Estado de São Paulo, incluindo lojas de aquário, devem ter um médico veterinário como RT do estabelecimento, de acordo com o Decreto Estadual nº 40.400 de 24/10/1995 (SÃO PAULO, 1995). Porém o argumento debatido foi o pequeno número de profissionais especializados em organismos aquáticos ornamentais que atuam neste setor e o aumento de custos gerados por esta obrigatoriedade. **Proposição:** Propôs-se que um profissional pudesse atender um maior número de estabelecimentos através de Associações. Também que o CRMV-SP deixasse uma base de dados disponível dos profissionais treinados em manejo sanitário e patologia de peixes oferecidos pela instituição. Neste caso, embora exista um número máximo de estabelecimentos que um RT possa atuar, o CRMV-SP é favorável ao estudo de caso a caso, o que dependerá da localidade e porte dos estabelecimentos,

assim não comprometendo a eficiência dos serviços. É importante destacar que a atual gestão, através da Comissão Técnica de Aquicultura do CRMV-SP, tem oferecido anualmente cursos de extensão em sanidade aquícola e em responsabilidade técnica para estabelecimentos de comércio de peixes ornamentais para profissionais e estudantes de medicina veterinária.

- Tema 5 – Uso e registro de medicamentos em aquarofilia. **Motivo:** Atualmente é bastante limitada a quantidade de drogas permitidas para uso em peixes. **Proposição:** Através das associações e com apoio do poder público (citou-se o MPA), poderia ser efetuado um levantamento epidemiológico das principais doenças no Brasil e um inventário das doenças para o desenvolvimento e liberação de medicamentos adequados à realidade da aquicultura com fins ornamentais. **Manifestação do MPA:** Com o intuito de disponibilizar mais opções de produtos veterinários para uso em aquicultura, o Ministério da Pesca e Aquicultura, solicitou ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento a priorização na análise de processos de registro de produtos veterinários destinados a aquicultura que estão em análise naquele órgão (Ofício Conjunto nº 01/2011 SEMOC/SEPOA/MPA de 27/04/2011) (BRASIL, 2011). Essa necessidade é crescente devido ao pleno desenvolvimento da atividade e ao reduzido número de medicamentos disponíveis, e no intuito de auxiliar nesse processo o MPA disponibilizou corpo técnico qualificado para auxílio à avaliação para o referido registro.
- Tema 6 – Regulamentação para doação, troca ou comércio de espécimes excedentes. **Motivos:** Em muitas ocasiões, os animais reproduzem-se nos aquários ou tanques particulares, podendo representar um desequilíbrio ao sistema (aquário) e/ou uma ameaça aos animais já existentes no sistema aquático. Este é o caso principalmente dos invertebrados, como corais e anêmonas. Nesta circunstância por que passa o aquarista não há alternativas formais para o encaminhamento deste excedente. **Proposição:** Regulamentação da possibilidade de entrega/devolução/renegociação dos animais aos lojistas, que teriam um local separado para os receber. Também se propôs a doação às instituições, como aquários públicos ou universidades. Foi citado o sacrifício dos animais excedentes, como corais e anêmonas. No caso de retorno às lojas, a questão cuja solução ficou em aberto foi como seria viabilizada a legalização da entrada dos animais junto aos lojistas. Quanto a este item ainda não se obteve retorno dos órgãos competentes.



Zoanthus: gênero de invertebrado com ampla distribuição geográfica e de fácil reprodução, comumente encontrado em aquários ornamentais marinhos decorados com corais vivos

- Tema 7 – Incentivo para a regularização dos membros da cadeia produtiva. **Motivo:** Atualmente grande parte dos estabelecimentos de aquicultura apresenta-se na informalidade. A dificuldade no Licenciamento Ambiental representa uma grande preocupação por parte dos aquicultores. Este fato compromete a certificação sanitária, o controle de doenças e a rastreabilidade dos animais. **Proposição:** Para mudar este quadro propôs-se que as Associações, em conjunto a outras instituições públicas, buscassem junto ao órgão Estadual de Meio Ambiente, alternativas no processo de Licenciamento Ambiental. Para o Estado de São Paulo se sugeriu a solicitação do MPA à Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – CETESB a inclusão do aquicultor urbano na lista de dispensa de Licenciamento Ambiental. Também se propôs a implementação de um marco zero para o cultivo de peixes ornamentais.
- Tema 8 – Revisão da legislação para exploração de substratos calcários. **Motivo:** Este item refere-se ao uso de esqueletos de plantas calcárias (halimeda) utilizada como substrato em aquários ornamentais marinhos. Foi esclarecido pelos representantes do IBAMA que já existe norma específica (IN IBAMA nº 89/2006), que permite este comércio.
- Tema 9 – Extrativismo e comércio de invertebrados. **Motivo:** Existe uma grande demanda por invertebrados aquáticos (crustáceos, celenterados, equinodermos) na aquariofilia marinha, pois são detritívoros e colaboram no equilíbrio do sistema aquático. Porém hoje não há regulamentação sobre este comércio em relação às espécies nativas. **Proposição:** Havendo o cumprimento das normativas vigentes sobre espécies em risco de extinção a captura seria permitida. **Manifestação do MPA:** Devido à necessidade eminente de revisão da legislação da pesca e aquicultura ornamental, o

Ministro de Estado da Pesca e Aquicultura instituirá no primeiro semestre de 2012 um Grupo de Trabalho que subsidiará seus superiores sobre as discussões que serão provocadas com outros órgãos públicos federais, referentes à temática ornamental.

- Tema 10 – Facilitação do processo de captura de matrizes de espécies aquáticas com fins ornamentais. **Motivo:** A captura de matrizes de espécies para reprodução em cativeiro está atrelada ao modelo de autorização positivista utilizado pelo governo brasileiro o que impossibilita a liberação de licenças de captura de matrizes para espécies que não constem nestas listas positivas. Esta é uma demanda antiga do mercado e importante principalmente para as espécies em risco de extinção. Atualmente é mais fácil reproduzir espécies exóticas do que as espécies nativas e endêmicas. **Proposição:** Propôs-se que seja estabelecida pelos órgãos reguladores uma norma para a obtenção de licenças de captura de matrizes para aquicultura ornamental, incluindo as espécies que constam em normativas de espécies ameaçadas de extinção. **Manifestação do MPA:** Este assunto está elencado como um dos temas a serem discutidos pelo Grupo de Trabalho a ser instituído pelo MPA.
- Tema 11 – Revisão da IN IBAMA nº 202/2008 referente aos organismos aquáticos ornamentais marinhos e estuarinos permitidos para importação. **Motivo:** Quanto a este item, foi informado que existe um processo de revisão da IN IBAMA nº 202/2008 em vias de ser encaminhado ao MPA, para elaboração de uma Instrução Normativa interministerial entre o MPA e o MMA. **Manifestação do MPA:** Este assunto está elencado como um dos temas a serem discutidos pelo Grupo de Trabalho a ser instituído pelo MPA.

Ações geradas a partir do *Workshop*

Recentemente foi publicada a Instrução Normativa Interministerial MPA/MMA nº 1 de 3 de janeiro de 2012 (BRASIL, 2012), que ampliou a lista de espécies de peixes nativos ou exóticos de águas continentais com finalidade ornamental ou de aquariofilia permitidos para captura e comercialização, o que também atende aos anseios do setor. Esta normativa incrementou, segundo relato dos exportadores em reunião realizada pelo MPA na cidade de Belém em 2012, em 400% as exportações do Estado do Pará.

No início do ano de 2012, o MPA iniciou o trabalho junto aos aeroportos dos principais Estados da Federação por onde são importados e exportados animais aquáticos ornamentais. Foram realizadas reuniões nos Estados do

Amazonas, Pará, Ceará e São Paulo, estando previstos ainda os aeroportos do Rio de Janeiro, Pernambuco e Espírito Santo. No Estado do Amazonas, através de simples medidas operacionais, o tempo para o embarque dos peixes para exportação foi reduzido de 16h para 4h, reduzido em $\frac{3}{4}$ do tempo, o que se traduz em redução do tempo total de trânsito dos peixes ornamentais e consequentes benefícios para o bem estar dos animais, manutenção de sua higidez até o destino e redução de prejuízos econômicos para o setor. Em Belém/PA (aeroporto responsável por 70% das exportações em termos de valor) foi finalizado e assinado o protocolo de procedimentos para exportação com as responsabilidades do exportador aos órgãos públicos envolvidos. Esse protocolo estabeleceu por meio de um fluxograma o prazo de 4 horas desde a chegada da carga até a sua liberação expedida pela Receita Federal à companhia aérea. Já em São Paulo/SP (predominantemente importador) as novas medidas, também acordadas em reuniões, estão na primeira fase de testes, com possíveis resultados de redução do tempo de desembarço das cargas em curto prazo.

Além disso, recentemente e a pedido do excelentíssimo Ministro de Estado da Pesca e Aquicultura, foi instituído através da Portaria MPA nº 156/2012 (BRASIL, 2012) o Grupo Técnico de Trabalho de Políticas de Pesca e Aquicultura Ornamentais, que conta com representantes da Secretaria de Monitoramento e Controle da Pesca e Aquicultura, Secretaria de Planejamento e Ordenamento da Pesca, Secretaria de Planejamento e Ordenamento da Aquicultura e Secretaria de Infraestrutura. Um dos objetivos do Grupo de Trabalho é levantar os subsídios necessários ao MPA para provocar a discussão de revisão das normas que atendam ao setor com responsabilidade ambiental.

Este órgão também realizou a indicação de um representante ao Comitê de Pesca e Aquicultura da Federação das Indústrias do Estado de São Paulo – FIESP no intuito de incluir as demandas do setor nos pleitos que estavam sendo realizados junto ao governo do Estado de São Paulo.

Outra ação positiva foi a realização de uma reunião entre a Coordenação Geral de Registro de Aquicultura e a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo – CETESB, a fim de solicitar àquele órgão o tratamento diferenciado aos aquicultores urbanos, pois estes utilizam água da companhia de água e pagam 100% de tratamento sobre a água utilizada. O MPA também assinou a possibilidade de formalizar um termo de cooperação junto a CETESB a fim de compartilhar informações evitando a necessidade de o aquicultor realizar cadastro em ambos os órgãos, já que pela Lei nº 11.959/2009 (BRASIL, 2009), este tem que realizar registro no MPA.

Conclusões

Neste evento ficou evidente o quanto a aquicultura ornamental no Brasil ainda necessita progredir em seus aspectos técnicos e de regulamentação ambiental e sanitária.

A organização do setor da cadeia produtiva ainda é frágil e incipiente e muitos ainda possuem preocupações em se expor, pois a pouca orientação técnica e as dificuldades na aquisição de Licenciamento Ambiental são fatores limitantes e que tornam a atividade em muitos aspectos informal.

Porém a busca de consensos entre as instituições reguladoras e a cadeia produtiva é fundamental para que todos os atores envolvidos atinjam o grau de maturidade necessário para a superação de desafios, fortalecimento e crescimento da aquicultura e comércio de animais aquáticos com fins ornamentais e de aquariofilia no Brasil.

Um dos pontos mais discutidos pelos representantes do setor foi quanto à atuação do médico veterinário na área de peixes ornamentais. Foi discutida exaustivamente a atuação profissional, que, segundo os participantes, muitas vezes deixa a desejar em relação às necessidades práticas e objetivas dos estabelecimentos de aquicultura e comércio, como orientação de boas práticas de manejo, diagnóstico, terapêutica e todas as outras atribuições de um responsável técnico.

Quanto a esta questão os autores ressaltam que deva haver maior esforço e atenção no ensino da medicina veterinária sobre a área de aquicultura e sanidade de peixes, com consequências positivas para toda a cadeia produtiva. Desta forma poderá haver uma fase de real contribuição no que lhe compete, assim como ocorreu no passado em outras áreas de produção animal de sucesso no Brasil.

Por fim, os autores gostariam de compartilhar e deixar como exemplo este modelo de discussão em que ficou evidenciado o quanto pode ser atingido com os debates e a formalização das demandas, a organização do setor e a oportunidade de diálogo com as instituições reguladoras que trouxeram esclarecimentos e benefícios para os envolvidos, em diferentes níveis: técnico, produção, distribuição, comércio varejista e consumidor final.

Agradecimentos

Para a realização do evento os autores gostariam de agradecer o apoio e a participação do Dr. Francisco Cavalcanti de Almeida (Presidente do CRMV-SP), Dra. Agar Costa Alexandrino de Pérez (SAA/IP-SP), Dr. Alexandre Develey (CRT/CRMV-SP), Dr. Rui Donizete Teixeira (CGRA/DRPA/SEMOC/MPA), Dr. Claudio Regis Depes (CDA/SAA-SP), Dr. Augusto Pérez Montano (CTA/CRMV-SP), Dr. Roberto Takanobu Ishikawa (CTA/CRMV-SP),

Ricardo Ferreira Martins (*Worldfish* Peixes Ornamentais e Aquários/Comissão de Clientes do MAPA), Dra. Tatiana F. S. Pelucio (ATMV/CRMV-SP), Dra. Patrícia Pozzetti (SSA/SFA/MAPA-SP), Dr. Carlos Alberto Diegues Fogaça (SSA/SFA/MAPA-SP), Dr. Cleverton Freitas (SVA/GRU/DDA/SFA/MAPA-SP), Dr. José de Barros Vieira (CDA/SAA-SP), Dr. João Batista Kochenborger Fernandes (UNESP/Jaboticabal), Daniel Eduardo Visciano de Carvalho (NUFAP/SUPES/IBAMA-SP) e Luis Frosh (IBAMA-SP), além das Associações, pesquisadores e profissionais autônomos presentes no evento. Também agradecem a foto gentilmente cedida por Ricardo Paiva Rio.

Referências

ARAÚJO, A. P.; PÉREZ, A. C. O médico veterinário e o comércio de peixes ornamentais. *Revista de Educação Continuada CRMV-SP*, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 176-186, 2005.

BRASIL. CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA. Resolução n. 592, de 26 de junho de 1992. Enquadra as Entidades obrigadas a registro na Autarquia: CFMV-CRMVs, dá outras providências e revoga as Resoluções n.ºs 80/72; 182/76; 248/79 e 580/91. *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 27 out. 2009, Seção 1, p. 15089.

BRASIL. Lei n.º 5.517, de 23 de outubro de 1968. Dispõe sobre o exercício da profissão de Médico Veterinário e cria os Conselhos Federal e Regionais de Medicina Veterinária. *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 out. 1968. Seção 1.

BRASIL. Lei n.º 11.958, de 26 de junho de 2009. Dispõe sobre a transformação da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca da Presidência da República em Ministério da Pesca e Aquicultura. *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 jun. 2009. Seção. 1, p. 01-02.

BRASIL. Lei n.º 11.959, de 29 de junho de 2009. Dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca. *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 jun. 2009. Seção 1.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.º 18, de 18 jul. 2006. Regulamenta guia de transporte de animais *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 20 jul. 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.º 18, de 13 mai. 2008. Estabelece os procedimentos para importação de animais aquáticos para fins ornamentais e destinados à comercialização. *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 14 maio 2008. Seção. 1, p. 13.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários. **Relatório de produtos com licença vigente**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Registros_Autorizacao/listas%20de%20produtos/licen%C3%A7asvigentes%209_03.pdf> Acesso em: 19 nov. 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA FAZENDA. Secretaria da Receita Federal. Instrução Normativa SRF n.º 608, de 9 de janeiro de 2006. Dispõe sobre o Sistema Integrado de Pagamento de Impostos e Contribuições das Microempresas e das Empresas de Pequeno Porte (Simples). *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 13 jan. 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Ofício Conjunto nº 01/2011. Secretaria de Monitoramento e Controle (SEMOC). Secretária de Planejamento e Ordenamento da Aquicultura/ SEPOA. Brasília, DF, 27 abr. 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Portaria nº 156, de 6 de junho de 2012. Institui o Grupo Técnico de Trabalho de Políticas de Pesca e Aquicultura Ornamentais. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 6 jun. 2012. Sec. 2, p. 55.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Coordenação Geral de Registro de Aquicultura/CGRA/Departamento de Registro da Pesca e Aquicultura (DRPA). Secretaria de Monitoramento e Controle (SEMOC). [Ofício nº 50/2011] 26 out. 2011, Brasília [para] São Paulo, Conselho Regional de Medicina Veterinária e Zootecnia. Assessoria Técnica de Medicina Veterinária (ATMV). [2011] 7 f. **Resposta Encaminhamentos da Comissão Técnica de Aquicultura/CTA/CRMV-SP**. Brasília, DF, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Secretaria de Monitoramento e Controle (SEMOC). [Ofício nº 272/2011] 21 out. 2011, Brasília, DF [para] São Paulo, Conselho Regional de Medicina Veterinária e Zootecnia/Assessoria Técnica de Medicina Veterinária (ATMV). 2011. 4 f. **Resposta Encaminhamentos da Comissão Técnica de Aquicultura/CTA/CRMV-SP**. Brasília, DF, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Extrato de Acordo de Cooperação Técnica nº 6/2010. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 02 ago. 2010. Seção. 3, p. 85.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução Normativa Interministerial nº 1, de 3 jan. 2012. Estabelece normas, critérios e padrões para a exploração de peixes nativos ou exóticos de águas continentais com finalidade ornamental ou de aquariofilia. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 4 jan. 2012. Seção. 1, p. 26-42.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução Normativa nº 13, de 09 de junho de 2005. Permitir, para fins ornamentais e de aquariofilia, a captura, o transporte e a comercialização de exemplares vivos de peixes nativos de águas continentais listados no Anexo I desta Instrução Normativa. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 13 jun. 2005. Seção. 1, p. 83.

CRUZ, G. R. Gestão pública participativa: o papel da reforma do Estado e dos movimentos sociais. **Revista de Ciência Política**, São Carlos, n. 38, 2008. Disponível em: <http://www.achegas.net/numero/38/gisele_38.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2012.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e de aquariofilia**. Brasília, DF, 2007. 214 p.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa nº 89, de 02 de fevereiro de 2006. Define critérios para a exploração, a exploração, o transporte e a comercialização, inclusive a revenda, de algas marinhas do litoral brasileiro. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 3 fev. 2006. Seção. 1, p. 109-110.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa nº 202, de 22 de outubro de 2008. Dispõe sobre normas, critérios e padrões para a exploração com finalidade ornamental e de aquariofilia de peixes nativos ou exóticos de águas marinhas e estuarinas. **Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 24 de out. 2008. Seção. 1 p. 82.

LIMA, A. O.; BERNARDINO, G.; PROENÇA, C. E. M. Agronegócio de peixes ornamentais no Brasil e no mundo. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 14-24, 2001.

RIBEIRO, F. A. S. Panorama mundial do mercado de peixes ornamentais. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 108, p. 32-37, 2008.

RIBEIRO, F. A. S.; LIMA, M. T.; FERNANDES, J. B. K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Boletim ABLimno**, Rio Claro, v. 2, n. 38, 2010.

SÃO PAULO. (Estado). CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA. Assessoria Técnica de Medicina Veterinária (ATMV). [Ofício nº 429/2011] 29 jul. 2011, São Paulo [para] Ministério da Pesca e Aquicultura. Departamento de Registro da Pesca e Aquicultura (DRPA). Brasília, DF. 12 f. **Memórias da Organização do Workshop "Gestão Participativa no Comércio de Peixes Ornamentais"**. São Paulo, SP, 2011.

SÃO PAULO (Estado). Decreto nº 40.400, de 24 de outubro de 1995. Aprova Norma Técnica Especial relativa à instalação de estabelecimentos veterinários. **Diário Oficial {do} Estado de São Paulo**. São Paulo, SP, 25 de out. 1995. v. 105, n. 204.

VIDAL, M. V. As Boas perspectivas para a piscicultura ornamental. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 41-45, 2002.

Importância da Aquicultura na Saúde Pública

Importance of Aquaculture in Public Health

Resumo

A aquicultura é uma importante cadeia produtiva brasileira, que vem se tornando cada vez mais notável no mercado internacional. Entretanto, causa impactos ambientais e riscos para a saúde pública, decorrentes de falhas técnicas e sanitárias que podem ser observadas ao longo de toda cadeia produtiva. Nessa revisão, serão abordados importantes temas relacionados à aquicultura e suas interfaces na preservação ambiental e da saúde das populações, abrangendo importantes zoonoses que vem se tornando emergentes e outros aspectos como a resistência a antibióticos decorrentes da utilização inapropriada pelos produtores.

Summary

The aquiculture é a important brazilian supply chain, and is coming remarkable at the international markets. However, still causes environmental impacts and risks to the public health from technical and sanitary failures that can be seen along the complete supply chain. On this review, will be addressed important themes related to aquiculture and the interfaces on the environmental and public health preservation, covering important zoonoses that are coming emergents and other aspects like the resistance to antibiotics arising from the inappropriate use by the producers.

Gabriel Augusto Marques Rossi ¹

Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n
14884-900 – Jaboticabal, SP.
☎ +55 16 3209 2646
✉ gabrielrossiveterinario@hotmail.com



Palavras-chave

Aquicultura. Saúde Pública. Zoonoses.

Keywords

Aquiculture. Public Health. Zoonoses.

Devido às mudanças no hábito alimentar das populações, e pelo pescado ser um alimento de excelente fonte protéica, sendo uma das que apresenta maior facilidade de digestão, e rico em ômega 3 e 6, vitaminas e minerais, seu consumo está aumentando, sendo que os produtos consumidos são oriundos tanto das atividades marinhas como das continentais.

A pesca extrativa no Brasil apresenta limitações para sua expansão, em que ainda ocorre ineficiência econômica e social no uso dos recursos produtivos, decorrentes da sobrepesca, da alocação inapropriada dos insumos produtivos e da falta de uma política apropriada para desenvolvimento e controle da atividade. Dentro desse contexto, a aquicultura permite a adaptação de tecnologias já existentes e o desenvolvimento de novas tecnologias; o aproveitamento dos recursos naturais, a integração racional entre o meio ambiente e a exploração da aquicultura e dos recursos pesqueiros, a diversificação e o aproveitamento dos subprodutos, a possibilidade de sistemas integrados com atividades agrícolas e pecuárias, redução de custos e os riscos atuais da atividade, a qualidade comercial e nutricional dos produtos, e ainda, viabiliza a criação de verdadeiros “bancos de proteína” de custo acessível (QUEIROZ; MOURA, 1996).

Apenas no ano de 2010, foram produzidas pelo Brasil 1.264.765 toneladas de pescado, um aumento de 2% em relação a 2009, sendo

¹ Pós-graduando em Medicina Veterinária, Depto. Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, UNESP, Jaboticabal SP – Brasil.

a pesca marinha extrativista responsável por 42,4%, seguida da aquicultura continental por 31,2%, pela pesca extrativista continental por 19,7% e aquicultura marinha por 6,7%, sendo o estado de São Paulo responsável por 79.262,3 toneladas, demonstrando a importância dessa cadeia produtiva em nosso país (MPA, 2010).

Entretanto, essa cadeia produtiva pode afetar tanto o meio ambiente, como as populações e a saúde pública, através das alterações físicas, químicas e biológicas que causam no ambiente e no perfil de distribuição de enfermidades. Essa revisão objetivou difundir o conhecimento a respeito da importância das atividades da aquicultura para a saúde pública e o meio ambiente, abrangendo importantes zoonoses que vem se tornando emergentes e outros aspectos como a resistência a antibióticos decorrentes da utilização inapropriada.

Interface entre aquicultura, meio ambiente e Saúde Pública

A eutrofização ocorre devido ao aumento de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio na água (HENRY et al., 2006; MUNDAY et al., 1992; PILLAY, 2004). Apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas nas condições físico-química da água e nutrientes entre trechos utilizados para pisciculturas em tanques-rede e locais sem a interferência desta atividade, (CARVALHO; RAMOS, 2010). Diaz, Temporetti e Pedrozo (2001) e Hermes-Silva et al. (2004) observaram alterações na concentração de biomassa de algas, comunidades fitoplanctônicas e zooplanctônicas nessas áreas.

Segundo Kestmont (1995), os principais efeitos negativos da aquicultura sobre o meio ambiente são a alteração da temperatura da água; aumento da demanda de oxigênio e da concentração de fósforo e sólidos em suspensão; diminuição do oxigênio dissolvido; contaminação com produtos químicos; acúmulo de sedimento rico em matéria orgânica; poluição e erosão; e disseminação de doenças.

Peixes criados ou capturados em ambientes poluídos, que contenham dejetos e fezes, podem albergar não só microrganismos patogênicos (GUZMÁN et al., 2004), mas também podem estar contaminados por substâncias químicas, como os piretróides, organofosforados, avermectinas, inibidores da quitina, dioxina, metais pesados, como o mercúrio e o cobre, e uma gama de antibióticos (BURRIDGE et al., 2010; COLE et al., 2009). A utilização indiscriminada de produtos para o controle e prevenção de doenças e de defensivos agrícolas pode ter consequências diretas e indiretas no ambiente e para a saúde pública (LIUSON, 2003).

Devido à elevada densidade utilizada nas criações comerciais, aliada a uma série de outros fatores, os animais possuem maior risco de infecção por bactérias,

sendo então utilizados antibióticos como tratamento terapêutico e preventivo de forma errônea e empírica, sem recomendações técnicas especializadas relativas à resistência bacteriana (GAO et al., 2012; FURUSHITA et al., 2003; PETERSEN; DALSGAARD, 2003). Esta problemática pode afetar diretamente a saúde pública, pois as bactérias do meio aquático, quando resistentes, podem influenciar a resistência de bactérias que afetam populações humanas, através de transferência genética (MARTINEZ, 2009; SAPKOTA et al., 2008). No Brasil é permitida apenas a utilização do florfenicol na aquicultura (MAPA, 2010), porém a resistência bacteriana também é observada para diversos antibióticos não permitidos, que caracteriza o não cumprimento das leis vigentes (CARNEIRO et al., 2007).

Devido ao crescimento de mercados internacionais, tradições culturais, intensificação da agropecuária, degradação ambiental, alterações demográficas e ferramentas disponíveis de controle, vêm se alterando o perfil de distribuição de enfermidades, e dentro dessas, as zoonóticas (WHO, 1995).

Algumas dessas são de origem parasitária, como a enfermidade causada pelos trematóides da família Opisthorchiidae, que causam colangite, pancreatite e colangiosarcoma, sendo determinado como fator de risco, o consumo de peixes crus ou mal cozidos e hábitos migratórios. Esta doença acomete aproximadamente 17 milhões de pessoas no mundo, principalmente na Ásia e Europa, maiores produtores mundiais de pescado. Esta distribuição é dependente da localização geográfica de caracóis hospedeiros intermediários (WHO, 2004; CHAI; MURRELL; LYMBERY, 2005). Para controle são necessárias medidas como o tratamento dos hospedeiros infectados, controle dos caracóis e educação comunitária sobre o risco presente no consumo de peixes crus (GUOQING et al., 2001 apud CHAI; MURRELL; LYMBERY, 2005). Também existem outros trematóides importantes, como os do gênero *Metagonimus*, *Ascocotyle*, *Heterophyes*, em que o consumo de pescado indevidamente preparado é a via de transmissão (CHAI; MURRELL; LYMBERY, 2005; OLIVEIRA et al., 2007). No Brasil, foi verificado que, de 102 pessoas que consumiram tainha crua, hospedeiro em que se observa alto índice de prevalência de infecção pelo parasita, 8,82% estavam infectadas pelas formas adultas de *Ascocotyle (Phagicola) longa* (CHIEFFI et al., 1990; ALMEIDA DIAS; WOICIECHOVSKI, 1994 apud OLIVEIRA et al., 2007).

Outra zoonose importante é a anisakiase, causada pelos nematóides intestinais *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens* e *Contracaecum osculatatum*, em que os peixes e crustáceos são as principais fontes de infecção para humanos. No Brasil, as larvas de Anisakidae já foram encontradas em diversas espécies,

como, por exemplo, peixe-espada (*Trichiurus lepturus*), anchovas (*Pomatomus saltatrix*), pargos (*Pagrus pagrus*) (GERMANO; GERMANO, 1998), peixe-porco (*Aluterus monoceros*) (DIAS; CLEMENTE; KNOFF, 2010) e em jundiás (*Rhamdia quelen*) (RUE et al., 2010). Em estudo que avaliou bacalhaus comercializados, de 11 amostras examinadas, 64% possuíam larvas de nematóides da família Anisakidae (PRADO; CAPUANO, 2006). Pereira et al. em 2000, encontraram 27,3% dos bacalhaus comerciais infectados por esse parasita na capital do estado de São Paulo. A enfermidade nunca foi diagnosticada em humanos no Brasil, que causa dor abdominal, vômito, diarreia e síndromes alérgicas.

Outra importante e emergente zoonose veiculada pelo consumo inadequado de pescado é a difilobotriose, causada pelo cestódeo *Diphyllobothrium latum*, parasita de peixes de água doce ou salgada, que também pode acometer humanos. O primeiro relato de *Diphyllobothrium latum* no Brasil ocorreu em 2004, na Bahia (SANTOS; FARO, 2005). No ano seguinte, a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde foi notificada da ocorrência de 27 casos autóctones em São Paulo, devido à ingestão de pescado cru em restaurantes japoneses. Posteriormente, em 2005, foi detectado em Brasília (LLAGUNO et al., 2008), Rio de Janeiro (TAVARES; LUQUE; BOMFIM, 2005) e Porto Alegre (MEZZARI; WIEBBELING, 2008), em que foi incriminado o consumo de sushi como via de transmissão, e em Ribeirão Preto, SP, em que foi consumido salmão cru (CAPUANO et al., 2007).

Alguns protozoários também podem acometer o consumidor, tais como *Cryptosporidium sp.* e *Toxoplasma gondii*, que foram encontrados em bivalves marinhos (CONRAD et al., 2005; HUNTER & THOMPSON, 2005). Devido a importância dessas parasitoses, o consumidor deve ter maior cuidado ao preparar o pescado para consumo (GÓMEZ-COUSO; MÉNDEZ-HERMIDA; ARES-MAZÁS, 2006; JONES et al., 2009).

O FDA preconiza que quando o pescado será destinado ao consumo cru, deve ser congelado a -35°C por 15 horas, ou -20°C por pelo menos sete dias. O cozimento também é efetivo quando realizado utilizando o binômio tempo/temperatura, 10 minutos a 60°C, segundo a Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo.

As bactérias do gênero *Edwardsiella sp* acometem peixes de água doce, causando mionecrose, abscessos hepáticos, hemorragias, ascite, ulcerações e necrose da linha lateral (NOGA, 2010). Este agente transmitido aos humanos pelo consumo de peixes infectados ou de água contaminada pode causar uma enterite grave, e em indivíduos imunossuprimidos, septicemia, celulites e mionecrose (VARTIAN; SEPTIMUS, 1990). A falta de boas práticas na

cadeia produtiva do pescado é o fator determinante para o aumento da contaminação, que contribui com baixa qualidade do produto brasileiro (ALMEIDA et al., 2002).

A micobacteriose dos peixes é outra importante zoonose, tendo caráter ocupacional ou recreacional, causada pelas bactérias que não pertencem as espécies *Mycobacterium leprae*, *M. lepraemurium* ou as do complexo *M. tuberculosis*, sendo o *M. marinum* um dos agentes mais importantes (HERRON, 1995 apud ISHIKAWA, 2001). Os animais apresentam dispnéia, imobilidade, pele com lesões focais e escurecimento, nódulos, úlceras, necrose de nadadeiras, mutilações e exoftalmia (GIAVENNI et al., 1980).

Em humanos, o *M. marinum* pode causar lesões cutâneas denominadas “granuloma de piscina” (WOLINSKY, 1992), estando associada às atividades aquáticas como natação, pesca, navegação e aquarismo (COLLINS et al., 1985 apud ISHIKAWA, 2001). A *M. fortuitum* também é capaz de provocar doenças nos humanos, estando relacionada ao manuseio em aquários contaminados (BRAGG; HUCHZERMEYER; HANISCH, 1990). Também já foi encontrada micobacteriose em anfíbios e répteis (MORAES et al., 1996; RAMOS, 1997). Essa enfermidade ainda necessita de estudos para prevenção dessa doença, e preservação da sanidade aquícola e humana (ISHIKAWA, 2001).

As enfermidades causadas pelas bactérias *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria* e *A. caviae* causam anorexia, letargia, exoftalmia, ascite e ulcerações e hemorragias nas nadadeiras e guelras dos peixes.. O aumento de carga bacteriana é devido aos elevados valores de matéria orgânica. Dessa forma o homem adquire esta doença pela contaminação de feridas e consumo da água contaminada principalmente em indivíduos imunossuprimidos (AGNEW; BARNES, 2007; NOGA, 2010). O mesmo ocorre com as espécies do gênero *Vibrio sp.*, que podem permanecer latentes até ocorrerem fatores ambientais para seu desenvolvimento, causando anorexia, ulcerações, exoftalmia e petéquias nos animais, podendo ser transmitida pela contaminação de lesões e consumo inadequado de animais infectados (BOYLAN, 2011).

A estreptococose, *Streptococcus iniae*, causa hemorragias e desorientação nos peixes acometidos, e artrites, meningites e endocardites em humanos. Outro agente bacteriano importante é *Erysipelothrix rhusiopathiae* que causa infecções cutâneas difusas ou localizadas e endocardite, enquanto nos mamíferos marinhos causa lesões cutâneas e septicemias agudas. Neste caso, é fundamental a manipulação do pescado congelado com luvas, pois esse microorganismo é capaz de resistir ao congelamento (BOYLAN, 2011).

Outras bactérias zoonóticas que podem estar associadas à aquicultura incluem as do gênero *Salmonella* sp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp, *Pseudomonas* spp, *Shigella* sp, *Staphylococcus* sp., *Francisella* spp., *Listeria* spp e *Clostridium* spp (BOYLAN, 2011). Morita (2005) avaliou 30 pesque-pagues localizados na região metropolitana de São Paulo e detectou *Escherichia coli* em cerca de 23% dos pesqueiros na época de seca, correlacionando com bactérias do gênero *Salmonella* spp.

Considerações finais

Muitos são os possíveis impactos decorrentes da aquicultura na saúde pública e no meio ambiente, necessitando maior atenção dos órgãos responsáveis pelo controle e fiscalização dessa cadeia produtiva. Também é fundamental a formação e capacitação adequada de profissionais capazes de atuar nessas áreas, prevenindo as enfermidades, principalmente as zoonóticas, e na resolução de problemas ambientais decorrentes de falhas técnicas e sanitárias durante todas as etapas, desde a produção até o consumidor final. Deve-se evitar o uso indiscriminado de antibióticos, utilizando-se de medidas sanitárias e nutricionais profiláticas que evitem a ocorrência de enfermidades, buscando uma cadeia produtiva mais sustentável e resiliente.

Referências

- AGNEW, W.; BARNES, A. *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. **Veterinary Microbiology**, v. 122, p. 1-15, 2007.
- ALMEIDA, E. S.; SIGARINI, C. O.; RIBEIRO, J. N.; DELMONDES, E. C.; STELATTO, E.; ARAUJO JR., A. Características microbiológicas de "Pintado" (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre, no município de Cuiabá – MT. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 84-88, 2002.
- BOYLAN, S. Zoonoses associated with fish. **The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice**, v. 14, n. 3, p. 427-438, 2011.
- BRAGG, R. R.; HUCHZERMEYER, H. F. A. K.; HANISCH, M. A. M. *Mycobacterium fortuitum* isolated from three species of fish in South Africa. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 57, p. 101-102, 1990.
- BURRIDGE, L.; WEIS, J. S.; CABELLO, F.; PIZARRO, J.; BOSTICK, K. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306, p. 7-23, 2010.
- CAPUANO, D. M.; OKINO, M. H. T.; MATTOS, H. R. M.; TORRES, D. M. A. G. V. Difilobotríase: relato de caso no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **RBAC**, v. 39, n. 3, p. 163-164, 2007.
- CARNEIRO, D. O.; FIGUEIREDO, H. C. P.; PEREIRA JUNIOR, D. J.; LEAL, C. A. G.; LOGATO, P. V. R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 869-876, 2007.
- CARVALHO, E. D.; RAMOS, I. P. A aquicultura em grandes represas brasileiras: interfaces ambientais, socioeconômicas e sustentabilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 38, p. 49-57, 2010.
- CHAI, J. Y.; MURRELL, D.; LYMBERY, A. J. Fishborne parasitic zoonoses status and issues. **International Journal of Parasitology**, v. 35, p. 1233-1254, 2005.
- CHIEFFI, P. P.; LEITE, O. H.; DIAS, R. M. S.; TORRES, D. M. A. V.; MANGINI, A. C. S. Human parasitism by Phagicola sp (Trematoda, Heterophyidae) in Cananéia, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 4, Aug. 1990.
- COLE, D. W.; COLE, R.; GAYDOS, S. J.; GRAY, J.; HYLAND, G.; JACQUES, M. L.; DUNFORD, N. P.; SAWHNEY, C.; AU, W. W. Aquaculture: environmental, toxicological, and health issues. **International Journal Environmental Health**, v. 212, p. 369-377, 2009.
- CONRAD, P.; MILLER, M.; KREUDER, C. Transmission of toxoplasma: clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. **International Journal of Parasitology**, v. 35, p. 1155-1168, 2005.
- DIAS, F. J. E.; CLEMENTE, S. C. S.; KNOFF, M. Nematoides anisquídeos e cestoides Trypanorhincha de importância em saúde pública em *Aluterus monoceros* (Linnaeus, 1758) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 94-97, 2010.
- DIAZ, M. M.; TEMPORETTI, P. F.; PEDROZO, F. L. Response of phytoplankton to enrichment from cage fish farm waste in Alicura reservoir (Patagonia, Argentina). **Lake and Reservoir Res. Management**, v. 6, p. 151-158, 2001.
- FURUSHITA, M.; SHIBA, T.; MAEDA, T.; YAHATA, M.; KANEOKA, A.; TAKAHASHI, Y.; TORII, K.; HASEGAWA, T.; OHTA, M. Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteriata those from clinical isolates. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, n. 9, p. 5336-5342, 2003.
- GAO, P.; MAO, D.; LUO, W.; WANG, L.; XU, B.; XU, L. Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. **Water Research**, v. 46, p. 2355-2364, 2012.

- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Anisakiase: zoonose parasitária emergente no Brasil? **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 54, p. 26-35, 1998.
- GIAVENNI, R.; FINAZZI, M.; POLI, G.; GRIMALDI, E. Tuberculosis in marine tropical fishes in an aquarium. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 16, n. 2, p. 161-168, 1980.
- GÓMEZ-COUSO, H.; MÉNDEZ-HERMIDA, F.; ARES-MAZÁS, A. *Cryptosporidium* contamination in harvesting áreas of bivalve mollusks. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 1, p. 185-190, 2006.
- GUZMÁN, M. C.; BISTONI, M. A.; TAMAGNINI, L. M.; GONZÁLEZ, R. D. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. **Water Research**, v. 38, p. 2368-2374, 2004.
- HENRY, R.; PANARELLI, E. A.; CASANOVA, S. M. C.; SIUBERTO, M. R.; AFONSO, A. A. O. Interações hidrológicas entre lagoas marginais e o rio Paranapanema na zona de sua desembocadura na represa de Jurumirim. In: NOGUEIRA, M. G.; HENRY, R.; JORCIN, A. (Ed.). **Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistema em cascata**. 2. ed. São Carlos: RiMA, 2006. p. 57-82.
- HERMES-SILVA, S.; SARDÃO, B. T. N.; SANTAMARIA, F.; NUÑER, A. P. O.; ZANIBONI-FILHO, E. Dinâmica do zooplâncton em uma área do Reservatório de Machadinho sob influência de cultivo em tanques-rede, rio Uruguai, Brasil. In: SIMPÓSIO: ECOLOGIA DE RESERVATÓRIOS – IMPACTOS POTENCIAIS, AÇÕES DE MANEJO E SISTEMAS EM CASCATA, 2004, Avaré. **Anais...** 2004. 71 p.
- HUNTER, P.; THOMPSON, A. The zoonotic transmission of giardia and cryptosporidium. **International Journal of Parasitology**, v. 35, n. 11/12, p. 1181-1190, 2005.
- ISHIKAWA, C. M.; MATUSHIMA, E. R.; SOUZA, C. W. O.; TIMENETSKY, J.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. Micobacteriose em peixes. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 231-242, 2001.
- JONES, J. L.; DARGELAS, V.; ROBERTS, J.; PRESS, C.; REMINGTON, J. S.; MONTOYA, J. G. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, p. 878-884, 2009.
- KESTMONT, P. Different system of carp production and their impacts on the environment. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 129, p. 347-372, 1995.
- LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. 2003. 94 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- LLAGUNO, M. M.; ESCALANTE, J. C.; WAIKAGUL, J.; FALEIROS, A. C. G.; CHAGAS, F.; CASTRO, C. *Diphyllobothrium latum* infection in a non-endemic country: case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 3, p. 301-303, 2008.
- MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Compêndio de produtos veterinários**. [2012]. Disponível em: <<http://www.cpv.com.br/cpv/index.html>>. Acesso em: 22 out. 2012.
- MAPA. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**, 2010. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2012.
- MARTINEZ, J. L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 2893-2902, 2009.
- MEZZARI, M. D. A.; WIEBELING, A. M. P. Diphyllobothriasis in Southern Brazil. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 30, p. 28-29, 2008.
- MORAES, J. R. E.; TORRES, H. A.; MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N.; MORAES, F. R. Tuberculose em *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802), em ranários comerciais diagnosticados pelo Centro de Aquicultura da UNESP. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 4., 1996, Pirassununga. **Resumos...** São Paulo: ABRAPOA, 1996. p. 28.
- MORITA, M. **Avaliação da qualidade sanitária e ocorrência de *Aeromonas* spp. em lagoas de pesque-pague da Região Metropolitana de São Paulo**. 2005. 119 f. Tese (Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- MUNDAY, B. W.; ELEFTHERIOU, A.; KENTOURI, M.; DIVANACH, P. **The interactions of aquaculture and the environment: a bibliographical review**. Bruselas: Commission of the European Communities, Directorate General for Fisheries, 1992. 325 p.
- NOGA, E. Diagnoses made by bacterial culture of kidney or affected organs. In: NOGA, E. (Ed.). **Fish disease, diagnosis and treatment**. 2. ed. Ames (IA): Iowa State University Press, 2010. p. 185-90.
- OLIVEIRA, S. A.; BLAZQUEZ, F. J. H.; ANTUNES, S. A.; MAIA, A. A. M. Metacercárias de *Ascoctyle (Phagicola) longa* Ransom, 1920 (Digenea: Heterophyidae), em *Mugil platanus*, no estuário de Cananéia, SP, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1056-1059, 2007.
- PEREIRA, A. D.; ATUI, M. B.; TORRES, D. M. A. G. V.; MANGINI, A. C.; ZAMBONI, C. Q. Incidência de parasitos da família Anisakidae em bacalhau (*Gadus morhua*) comercializado no Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 59, p. 45-49, 2000.
- PETERSEN, A.; DALSGAARD, A. Species composition and antimicrobial resistance genes of *Enterococcus* spp, isolated from integrated and traditional fish farms in Thailand. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 5, p. 395-402, 2003.
- PILLAY, T. V. R. **Aquaculture and the environment**. 2. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 94 p.
- PRADO, S. P. T.; CAPUANO, D. M. Relato de nematoides da família Anisakidae em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 6, p. 580-581, 2006.
- QUEIROZ, J. F.; MOURA, E. V. Aquacultura e recursos pesqueiros: alternativa para o desenvolvimento sócio-econômico do Rio Grande do Norte. **Caderno Ciência & Tecnologia**, v. 13, n. 2, p. 195-224, 1996.
- RAMOS, M. C. C. **Avaliação de aspectos morfológicos, histoquímicos, imunohistoquímicos e ultra-estruturais do processo inflamatório crônico, induzido experimentalmente pela inoculação de *Mycobacterium marinum* vivo e morto pelo calor, em tartarugas trajaçá *Podocnemis unifilis*, (Troschel, 1848)**. 1997. 135 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.
- RUE, M. L.; CEOLIN, L. V.; GABRIEL, C. C.; BALDISSEROTTO, B.; BECKER, A. G.; ALMEIDA, F. M.; JUNIOR, J. P. Risco de zoonose por parasitos do trato digestores de jundiás (*Rhamdia quellen*) coletados em reservatórios de água da região central do Rio Grande do Sul. **Revista Saúde** (Santa Maria), v. 36, n. 2, p. 79-81, 2010.
- SANTOS, F. L. N.; FARO, L. B. The first confirmed case of *Diphyllobothrium latum* in Brazil. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100. p. 585-586, 2005.
- SAPKOTA, A.; SAPKOTA, A. R.; KUCHARSKI, M.; BURKE, J.; MCKENZIE, S.; WALKER, P.; LAWRENCE, R. Aquaculture practices and potential human health risks current knowledge and future priorities. **Environmental International**, v. 34, p. 1215-1226, 2008.
- TAVARES, L. E. R.; LUQUE, J. L.; BOMFIM, T. C. B. Human diphyllobothriasis: reports from Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.14, n. 2, p. 85-87, 2005.
- VARTIAN, C.; SEPTIMUS, E. Soft-tissue infection caused by *Edwardsiella tarda* and *Aeromonas hydrophila*. **Journal Infectious Diseases**, v. 161, n. 4, p. 816, 1990.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of foodborne trematode infections. **World Health Organization Technical Report Series**, n. 849, p. 1-157, 1995.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of Joint WHO/FAO workshop on food-borne trematode infections in Asia, Ha Noi, 2002, Vietnam. Manila, Philippines: WHO; WPRO, 2004. p. 1-58. (Report Series Number: RS/2002/GE/40(VTN)).
- WOLINSKY, E. Mycobacterial diseases other than tuberculosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, p. 1-121, 1992.

Mycobacterium Bovis Como Agente Causal da Tuberculose Humana

***Mycobacterium Bovis* as causal agent of human tuberculosis**

Resumo

O *Mycobacterium bovis* incluído no complexo *Mycobacterium tuberculosis* pode infectar várias espécies de animais domésticos e silvestres. Embora acometa principalmente animais da espécie bovina também pode infectar outros mamíferos e inclusive os seres humanos, nos quais determina um quadro clínico indistinguível do causado pelo *M. tuberculosis*. Em diversos países desenvolvidos, devido à aplicação de rigorosas medidas de controle e consequente redução da prevalência da tuberculose bovina, bem como de infecções em outras espécies de animais pelo *M. bovis* houve em decréscimo dos níveis de ocorrência desta patologia e o tema passou a ser considerado de menor importância. No entanto, nos países em desenvolvimento, a infecção por *M. bovis* ainda representa um importante risco para a saúde pública, pois tem sido observada nos animais domésticos, silvestres e em seres humanos. O presente trabalho analisa a importância da infecção pelo *Mycobacterium bovis* em termos de saúde pública.

Summary

Mycobacterium bovis included in the *Mycobacterium tuberculosis* complex infects a range of domestic and wild animals. Although primarily infecting the bovine species it may also be isolated from other mammals, including human beings in which it promotes a disease that's indistinguishable from the one due to *M. tuberculosis*. In many industrialized countries due to the application of strict control measures and the consequent reduction in the prevalence of bovine tuberculosis, and infections of other animal species by *M. bovis*, this subject has been considered of minor importance. However in developing countries, there is still a significant public health risk of infection with this microorganism. Indeed in these countries *M. bovis* is, has been found in domestic animals, wildlife and humans. This paper analyzes the importance of *Mycobacterium bovis* infection for the human health.

Vivianne Cambuí Figueiredo Rocha¹

Salomão Cambuí de Figueiredo²

Acácia Orieth Elias⁴

Douglas Alexandre Saraiva Leão³

José Soares Ferreira Neto¹

Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87
Cidade Universitária
05508-270 – São Paulo, SP
✉ vivianecambui@hotmail.com



Palavras-chave

Tuberculose. Zoonose. Saúde humana.
Mycobacterium bovis.

Keywords

Tuberculosis. Zoonoses. Human health.
Mycobacterium bovis.

A tuberculose é uma doença antiga de importância mundial que acomete os seres humanos e os animais. Estima-se que o bacilo infecte 2,0 bilhões de pessoas ou aproximadamente um terço da população mundial, e que anualmente 1,5 a 2,0 milhões de seres humanos morram devido a tuberculose (WHO, 2009). Da estimativa citada, 95,0% dos casos ocorrem em pessoas procedentes de países em desenvolvimento. Dentre as doenças infecciosas registradas ao redor do globo, a tuberculose é uma das principais causas de óbito. O gênero *Mycobacterium* inclui várias espécies de microrganismos causadores da tuberculose tanto nos seres humanos como nos animais. O complexo *Mycobacterium tuberculosis* inclui *M. tuberculosis*, *M. africanum* (ainda não isolado no Brasil), *M. bovis*, *M. cannetti* (não patogênico para o homem), *M. pinnipedii* (isolado em focas e leões marinhos), *M. caprae* e *M. microti* (patogênico apenas para ratazana – *Microtis agrestis*) (BIER, 1978; CORNER, 1994; BROSCHE et al., 2002; COUSINS et al., 2003).

Nos países desenvolvidos, já foi alcançado um avanço significativo na erradicação da tuberculose humana, causada pelo complexo *Mycobacterium tuberculosis* (ENARSON; RIEDER, 1995). No

1 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ). Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, SP – Brasil.
2 Faculdade de Medicina Veterinária. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB). Sousa, PB – Brasil.
3 Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Campina Grande, PB, Brasil.
4 Curso de Medicina Veterinária. Universidade de Santo Amaro (UNISA). São Paulo, SP – Brasil.

entanto, nos países, em que os programas de controle da tuberculose somente foram estabelecidos há pouco tempo, o progresso no combate da doença é ainda insatisfatório. O desenvolvimento de estirpes de micobactérias resistentes às drogas (multidroga-resistentes e amplamente resistentes às drogas) tem comprometido a eficácia do tratamento da tuberculose em humanos e tem aumentado marcadamente o custo das terapias associadas ao uso de múltiplas drogas (ZIGNOL; HOSSEINI; WRIGHT, 2006). Além disso, a suscetibilidade dos humanos imunodeficientes ao complexo *M. tuberculosis*, como ocorre nos indivíduos infectados pelo vírus HIV, é a principal preocupação dos serviços oficiais de saúde pública nos países em desenvolvimento, onde a síndrome de imunodeficiência adquirida é endêmica (TIRUVILUAMALA; REICHMAN, 2002).

O *Mycobacterium bovis* é responsável por um pequeno, mas relevante, percentual dos casos de tuberculose registrados em seres humanos; configura-se também como um patógeno de importância econômica significativa nos animais domésticos e silvestres ao redor do mundo, especialmente nos países onde a informação sobre a prevalência da infecção pelo *M. bovis* nos humanos é reduzida. Em especial nos animais de produção, a infecção influencia de forma negativa a produtividade e interfere no comércio de produtos de origem animal desses países (THOEN; LOBUE; KANTOR, 2006; KANTOR; RITACCO, 2006; THOEN et al., 2009; TAYLOR et al., 2007).

Embora nos países desenvolvidos os programas que preconizam o diagnóstico e sacrifício de animais positivos tenham reduzido substancialmente a prevalência da tuberculose bovina, tais programas são dispendiosos e tem sido cada vez mais questionados quanto ao peso econômico que representam para os produtores rurais (TORGERSON; TORGERSON, 2009). Além disso, apesar dos casos ocasionais de infecções pelo *M. bovis* nos humanos, é sabido que a identificação da transmissão zoonótica é negligenciada na maioria dos países desenvolvidos. A Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization* – WHO) juntamente com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization* – FAO) e a Organização Internacional de Epizootias (*World Organisation for Animal Health* – OIE) recentemente classificaram a tuberculose causada pelo *M. bovis* como uma zoonose negligenciada, notadamente nos países desenvolvidos (MICHEL; MÜLLER; VAN HELDEN, 2010).

Nos países em desenvolvimento, as comunidades enfrentam um maior risco de infecção pelo *M. bovis*, devido ao maior grau de exposição dos seres humanos

aos animais, particularmente no que concerne ao consumo frequente de leite não pasteurizado e de produtos lácteos derivados de rebanhos que não possuem controle da tuberculose bovina. Ao mesmo tempo, essas populações estão inclusas no grupo onde as taxas de infecção HIV/AIDS são as mais altas do mundo e estão associadas ao aumento de suscetibilidade à co-infecção com o *M. tuberculosis*, principal causador de tuberculose nos humanos (BERG et al., 2011).

Histórico

O complexo *M. tuberculosis* é considerado uma família de ecótipos de micobactérias muito semelhantes, com cada ecótipo adaptado para causar tuberculose em uma espécie ou grupo de hospedeiros específicos, embora possa ocorrer a transmissão entre espécies (SMITH et al., 2006). Em contraste com as hipóteses mais antigas de que a tuberculose tenha evoluído de uma doença originariamente animal para uma doença humana (DIAMOND, 2002), novos achados indicam que de fato a tuberculose primeiramente emergiu nos humanos e foi subsequentemente transmitida para os animais (WIRTH et al., 2008). Estudos recentes sugerem que há cerca de 40.000 anos o ancestral comum do complexo *M. tuberculosis* emergiu na África Oriental. Mais tarde, após 10.000-20.000 anos, duas ramificações evoluíram, uma resultou nas linhagens humanas do *M. tuberculosis* e a outra disseminou-se dos humanos para os animais, resultando na diversificação dos seus hospedeiros e dando origem aos componentes do complexo *M. tuberculosis* que inclui o *M. bovis* (GUTIERREZ et al., 2005; WIRTH et al., 2008). Esta adaptação aos hospedeiros animais provavelmente coincide com a domesticação do bovino, há aproximadamente 13.000 anos (MICHEL; MÜLLER; VAN HELDEN, 2010).

Evidências nas formas das lesões encontradas em esqueletos, compatíveis com a doença de Pott, e especialmente o uso das técnicas de PCR, identificaram a ocorrência dos casos mais antigos de tuberculose tanto em humanos quanto em animais há pelo menos 3.000 a.C. (TAYLOR; YOUNG; MAYS, 2005; THOEN, 1994). Lesões patognomônicas em ossos, indicativas de tuberculose foram encontradas em esqueletos de bovídeos da idade do gelo (ROTHSCHILD; MARTIN, 2006).

Na história moderna, o bovino é a principal espécie hospedeira do *M. bovis*, na qual determina a doença denominada de tuberculose bovina. Este termo é também normalmente usado para descrever a infecção pelo *M. bovis* em outras espécies, incluindo os animais silvestres e os humanos, para demonstrar o bovino como fonte de infecção. A movimentação dos bovinos



Rotina laboratorial:
isolamento de micobactérias

dentro e entre os países ou continentes certamente facilitou a distribuição mundial da tuberculose bovina. Os modernos métodos de tipificação, com base na estrutura genética, têm determinado progressos no conhecimento da distribuição geográfica do *M. bovis* e permitido a identificação de complexos clonais dominantes em áreas geográficas mais abrangentes (MICHEL; MÜLLER; VAN HELDEN, 2010).

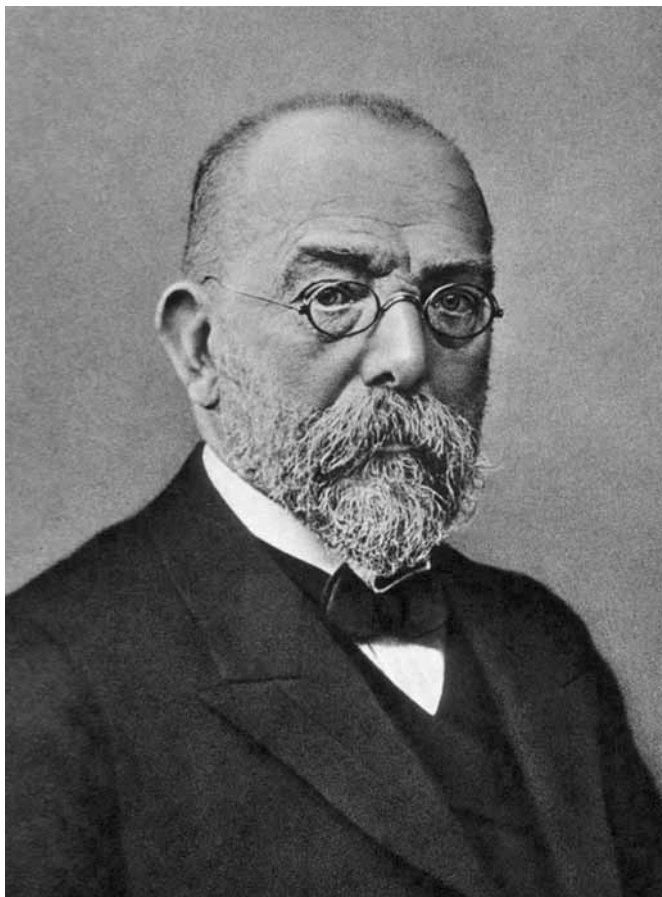
Os dados históricos disponíveis indicam que a tuberculose bovina teve a sua origem na Europa e, principalmente durante o período colonial, de tal continente, foi distribuída para o resto do mundo. Adicionalmente, Myers e Steele (1969) sugeriram que, em sua jornada de dispersão, o *M. bovis* alcançou o norte da Itália e de lá avançou para a Europa ocidental e Reino Unido. Webb (1936) ponderou ainda, que a propagação pelo mundo foi favorecida pela exportação de bovinos infectados oriundos do Reino Unido (principalmente) e dos Países Baixos para suas respectivas colônias (RENWICK; WHITE; BENGIS, 2007).

A intensificação da indústria leiteira em combinação com a movimentação da espécie bovina tem contribuído para a transmissão do *M. bovis*, especialmente na ausência de medidas apropriadas de controle (GILBERT et al., 2005). O comércio de gado entre países vizinhos e parceiros leva à dispersão do *M. bovis* e à dominância de complexos clonais em amplas áreas (MÜLLER et al., 2008). A análise da filogeografia dos complexos clonais do *M. bovis* constatou a existência de quatro grandes complexos de *M. bovis*: *African 1*, *African 2*, *European 1* e *European 2* (MÜLLER et al., 2008; BERG et al., 2011; SMITH et al., 2011b; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011). O complexo clonal *European 1* está

mundialmente distribuído e já foi identificado nas Ilhas Britânicas, nas ex-colônias britânicas, nas Américas, bem como no Cazaquistão e na Coreia, sugerindo que as raças bovinas recentes, como a Hereford, criada no Reino Unido no século 18, possam ter sido um bom veículo para a distribuição mundial desse grupo de estirpes (SMITH, 2011a).

Patogenia, Sinais Clínicos e Tratamento

O bacilo da tuberculose foi identificado há mais de 120 anos, no entanto, ainda hoje não existe uma compreensão definitiva da patogenia da doença causada pelo complexo *M. tuberculosis* (COLE; BROSCHE; PARKHILL, 1998; BROSCHE et al., 2002). O bacilo penetra no macrófago ligando-se às moléculas de superfície da célula do fagócito. A captura do bacilo pelo fagócito no fagossomo ou pelo vacúolo intracitoplasmático protege a micobactéria das defesas naturais do organismo do hospedeiro. Após a fagocitose do bacilo, o lisossomo se funde com o fagossomo formando o fagolisossomo e assim o fagócito tenta destruir o agente (OLSEN; BARLETTA; THOEN, 2010). No entanto, o bacilo virulento tem a habilidade de resistir a inativação. A micobactéria virulenta sobrevive dentro do fagócito mononuclear inibindo a fusão com o lisossomo pré-formado e assim limita a sua acidificação. Essa constatação sugere que a patogenicidade do complexo *M. tuberculosis* é um fenômeno multifatorial. No entanto, nos casos em que a resposta do hospedeiro é deficitária e incapaz de destruir os bacilos, como nas imunossupressões causadas pela quimioterapia, estresse ou infecção pelo HIV, que resultam em baixo número de células T CD4+, pode haver a reativação, liberação da micobactéria e continuidade da infecção (BIER, 1978).



Robert Koch
Médico, patologista e bacteriologista
alemão descobridor do Bacilo de Koch,
agente causador da tuberculose

A suscetibilidade das diferentes espécies de hospedeiros para o complexo *M. tuberculosis*, depende da exposição, dose de organismos e virulência da estirpe (THOEN, 1994). Os humanos, os primatas não humanos e as cobaias (porcos da índia) são muito susceptíveis ao *M. tuberculosis*. Os bovinos, os coelhos e os gatos são susceptíveis ao *M. bovis* e bastante resistentes ao *M. tuberculosis* (FRANCIS, 1958; LOMME et al., 1976; SCHMITT et al., 2002). Os suínos e os cães são susceptíveis a ambos (THOEN, 2006).

Nos humanos, a tuberculose pulmonar e sistêmica causada pelas espécies do complexo *M. tuberculosis* ocorre predominantemente pelo *M. tuberculosis*. A infecção ocorre quando indivíduos suscetíveis inalam núcleos ou gotículas contendo o bacilo e estes alcançam os alvéolos pulmonares. Os bacilos que atingem o alvéolo são fagocitados pelos macrófagos alveolares e a maioria é destruída ou inibida. Um pequeno número se multiplica intracelularmente e são libertados quando da lise dos macrófagos. Se sobreviverem caem na corrente sanguínea ou linfática e disseminam-se para tecidos e órgãos mais distantes, incluindo áreas nas quais a tuberculose tem maior probabilidade de se desenvolver:

ápices dos pulmões, rins, cérebro, e os respectivos linfonodos regionais. Este processo de disseminação prepara o sistema imune para as respostas sistêmicas. Os bacilos extracelulares atraem os macrófagos e outras células imunologicamente ativas. A resposta imune elimina muitos bacilos e os remanescentes são confinados pela formação de granulomas. Neste ponto, a infecção latente está estabelecida, e pode ser detectada com o emprego do teste de tuberculina de Mantoux ou por ensaios de liberação de interferon-gamma. Em algumas semanas após a infecção, o sistema imune é capaz de parar a multiplicação do bacilo, o que previne novas progressões (BIER, 1978).

Em alguns casos o bacilo da tuberculose supera as defesas do sistema imune e começa a se multiplicar, resultando na progressão da infecção latente para a doença. Este processo pode ocorrer logo ou muitos anos após a primo-infecção. Quando a infecção não é tratada, aproximadamente 3,0-5,0% das pessoas desenvolvem a tuberculose nos dois primeiros anos da infecção e outras 2,0-5,0% irão desenvolver a doença em algum momento de suas vidas. Assim, aproximadamente 5,0-10,0% das pessoas imunocompetentes que são infectadas pelo *M.*

tuberculosis irão desenvolver a tuberculose doença. Pessoas imuno-comprometidas tem maior chance de progressão da infecção para a doença, pessoas infectadas com o HIV que não recebam terapia antiretroviral tem 8,0% de risco anual de progressão, enquanto os indivíduos imunocompetentes tem 1,0% de risco anual (SELWYN et al., 1989).

O *M. bovis* é transmitido entre os animais domésticos e silvestres, assim como dos animais para o ser humano e vice versa. Os alimentos contaminados (especialmente o leite) ou o estreito convívio com os animais infectados são as principais vias de transmissão do *M. bovis* para os seres humanos (O'REILLY; DABORN, 1995; ASHFORD; WHITNEY; RAGHUNATHAN, 2001).

A apresentação clínica da tuberculose pelo *M. bovis* depende da rota de infecção. A infecção oral, adquirida pela ingestão de leite não pasteurizado, normalmente resulta em nódulos cervicais e mesentéricos e outras formas de doença não pulmonar. A infecção aerógena do bovino para os humanos desencadeia a tuberculose pulmonar. A tuberculose pulmonar, em seres humanos, causada pelo *M. bovis* é clinicamente, radiologicamente e patologicamente indistinguível da provocada pelo *M. tuberculosis*. De fato, a tuberculose humana por *M. bovis* pode certamente ser tão severa quanto à causada pelo *M. tuberculosis* (BILAL et al., 2010). Dados de San Diego, Califórnia (EUA), revelaram que pessoas infectadas pelo *M. bovis* tinham 2,55 vezes mais chances de morrer durante o tratamento que as infectadas pelo *M. tuberculosis* (RODWELL et al., 2008).

As estirpes do *M. bovis* são naturalmente mais resistentes a pirazinamida. No entanto, a suscetibilidade à outras drogas anti-tuberculose é normalmente similar ao *M. tuberculosis*. O Manual da Organização Mundial de Saúde, publicado em 2003 não apresenta recomendações específicas para a terapia da tuberculose bovina. Na prática, os pacientes são tratados com o sistema padronizado para anti-tuberculose. A Pirazinamida é omitida do tratamento. A *American Thoracic Society* recomenda um sistema inicial de dois meses de isoniazida, rifampicina e etambutol, seguidos de sete meses de isoniazida e rifampicina. A resistência à droga e à multidrogas pode ser desenvolvida e tem sido descrita. Foi constatado que a resistência é determinada por mutações cromossômicas nos genes que codificam o alvo das drogas. O acúmulo sequencial de mutações nos genes alvos leva ao desenvolvimento de estirpes multidroga-resistentes (BILAL et al., 2010).

Diagnóstico

Os métodos que atualmente são utilizados para o diagnóstico da tuberculose em seres humanos, especialmente os empregados nos países com poucos recursos, são inadequados para identificação do *M. bovis* (AYELE

et al., 2004; ASHFORD; WHITNEY; RAGHUNATHAN, 2001). Este é o maior obstáculo enfrentado para a determinação da ocorrência da infecção de seres humanos pelo *M. bovis*. Em muitos casos de tuberculose humana, o diagnóstico laboratorial é firmado pela identificação de bacilos álcool-ácido-resistentes no exame microscópico do escarro. Quando é efetuado o cultivo para isolamento do microrganismo, o meio de cultura a base de ovo contendo glicerol inibe o crescimento do *M. bovis* (THOEN et al., 2009). Até mesmo nos países desenvolvidos que utilizam meios de cultivo líquidos, as técnicas de identificação adotadas não estabelecem a diferenciação dos microrganismos além do nível do complexo *M. tuberculosis* (HLAVSA et al., 2008). As técnicas moleculares mais avançadas são dispendiosas e os laboratórios normalmente não possuem técnicos capacitados para a condução de tais ensaios. Além do mais, como o tratamento para a tuberculose causada pelo *M. tuberculosis* e pelo *M. bovis* são similares, alguns sinais clínicos não são considerados importantes para que se efetue a diferenciação da infecção provocada pelas duas espécies de microrganismos (THOEN; LOBUE; KANTOR, 2010).

Epidemiologia

A tuberculose continua a ser uma doença importante, tanto para os seres humanos quanto para os animais, com coeficientes de morbidade e mortalidade elevados e consequentemente é responsável por vultosas perdas econômicas. Há uma expressiva variação nas interações parasita/hospedeiro entre os diferentes componentes do complexo *M. tuberculosis* e os diversos grupos de animais e inclusive os seres humanos. No entanto, também há importantes intersecções entre os animais e os humanos em relação a esta zoonose. De fato, a ocorrência da doença provocada pelo *M. bovis* tanto nos humanos, quanto nos animais domésticos e silvestres, é referida como tuberculose zoonótica (LOBUE; ENARSON; THOEN, 2010).

O *M. bovis* continua a causar doença pulmonar e extra-pulmonar nos humanos. Ao contrário do que ocorre na transmissão do *M. bovis* de bovinos para os humanos, o papel da transmissão aérea do *M. bovis* entre seres humanos tem sido um tema controverso (LOBUE, 2006). A visão predominante é que a transmissão de humano-para-humano é um evento raro e que provavelmente só ocorra em populações particularmente susceptíveis à tuberculose como, por exemplo, as pessoas infectadas pelo HIV. No entanto, há relatos de casos de pacientes com infecção pulmonar pelo *M. bovis* em que foram evidenciadas relações epidemiológicas sociais, confirmadas por técnicas moleculares, indicando que a transmissão entre humanos realmente possa ocorrer,

mesmo em pessoas não imunossuprimidas (EVANS; SONNENBERG; GRACE SMITH, 2007).

Uma das maiores questões da epidemiologia do *M. bovis* no cenário da erradicação da tuberculose bovina é a definição da(s) fonte(s) de infecção e da(s) rota(s) de transmissão para os humanos. Na teoria, a comparação de perfis moleculares de amostras específicas entre isolados de animais e humanos poderia fornecer informações úteis para a elucidação desta questão. Nos últimos anos, a tipificação molecular dos isolados tem se tornado um valioso instrumento para o estudo da epidemiologia da infecção pelo *M. bovis*, assim como para determinação das relações filogenéticas entre as espécies (LARI et al., 2010).

Existem relatos de transmissão do *M. bovis* do animal para o humano, do humano para o humano e do humano para o animal. Assim como vários relatos de trabalhadores de fazendas com tuberculose bovina que transmitiram a infecção para os bovinos. A via de eliminação do agente dos trabalhadores para os bovinos e vice versa é o produto da tosse. Um caso de transmissão do bovino para o humano e de volta para o bovino foi descrito por Fritsche et al, em 2004. Também já foi descrita a transmissão do bovino para o humano e de humano para outro humano e para o animal de companhia dentro do mesmo domicílio (SHRIKRISHNA et al., 2009). Estes relatos ilustram a importância da identificação de todos os contactantes, dentre estes, todos os humanos do domicílio e qualquer animal de companhia deveriam ser investigados. A investigação dos humanos inclui exame clínico, radiografia de tórax e teste de Mantoux. O ensaio de liberação do interferon-gama também poderá ser utilizado em alguns casos (BILAL et al., 2010).

Discussão

Durante o período de 2000-2004, nos EUA o CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) identificou na cidade de Nova York, 35 casos de seres humanos infectados pelo *M. bovis*, o que correspondeu a 1,0% dos casos de tuberculose humana diagnosticados no período. Achados preliminares indicaram que o queijo fresco trazido do México foi a provável via de transmissão (WINTERS et al., 2005).

Na África Subsaariana, onde a tuberculose humana e a prevalência de HIV são altas e onde não foi possível a erradicação ou o controle da tuberculose bovina, metade ou mais da metade da população pode sofrer estreita exposição ao bovino, comparado com menos de 5,0% nos Estados Unidos (ZINSSTAG et al., 2006). Como a vigilância epidemiológica do *M. bovis* nos bovinos ou nos humanos não é executada nestes locais, que também apresentam altos níveis de ocorrência de HIV e

possuem poucos recursos, é esperado que a prevalência da infecção de seres humanos pelo *M. bovis* seja elevada, contudo, a informação acurada destes fatos não está disponível (THOEN; LOBUE; KANTOR, 2010).

Na Irlanda, em 2006, foram relatados 400 casos de tuberculose, dos quais cinco foram causados pelo *M. bovis*. Em 2007, novamente cinco foram identificados, de 465 casos relatados. O número anual de novos casos de tuberculose humana causados pelo *M. bovis*, no Reino Unido, no período de 1990-2003, varia de 17 a 50 – entre 0,5% e 1,5% dos casos de tuberculose confirmados pelo isolamento (DE LA RUA-DOMENECH, 2006).

Lari et al (2009) constataram que apesar da Itália (região da Toscana) ter alcançado o status de livre de tuberculose bovina, no período de 2002 a 2005, 1,7% de mais de mil casos de tuberculose humana foram causados pelo *M. bovis*, o que indica que o microrganismo ainda é um perigo em potencial para aquele país.

Na Holanda, no período de 1993 a 2007, 1,4% de todos os casos de tuberculose humana foram causados pelo *M. bovis*. Foram analisados dados de 231 pacientes, onde se pôde inferir que o diagnóstico da doença era acurado, no entanto, demorado, conduzindo ao tratamento inadequado em 26,0% dos casos. Este estudo também identificou que a proporção de mortes pela infecção causada por este patógeno foi maior do que a observada na tuberculose causada pelo *M. tuberculosis* (MAJOOR et al., 2011).

Na Espanha, foi constatado que de 110 isolados do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, 89 foram caracterizados como de *M. bovis*, o que correspondeu a 1,9% dos isolados. Também foi demonstrado que os principais fatores de risco para a infecção pelo *M. bovis* incluíam atividade agropecuária e também a condição do paciente ter nascido em países com alta prevalência de tuberculose bovina. A conclusão final foi que, na Espanha, os casos de tuberculose humana por *M. bovis* representam uma pequena proporção de todos os casos de tuberculose, e uma alta porcentagem dos casos está ligada à exposição ocupacional e são registrados em pessoas provenientes de países onde a tuberculose bovina é endêmica (RODRÍGUEZ et al., 2009).

Diferentemente do que tem sido observado nos países desenvolvidos, no México, no período de 2006 a 2007, de 562 amostras (escarro e urina) colhidas de seres humanos (255 sintomáticos, 218 de trabalhadores de fazendas e 93 de trabalhadores de abatedouros), foram constatados 34 (6,0%) casos de tuberculose por *M. bovis*. Pelos métodos moleculares, foi observado que as estirpes que infectavam os humanos eram idênticas às que infectavam os bovinos o que confirmou a interação epidemiológica homem/animal (MILIAN-SUAZO et al., 2002).

Na Etiópia, de 210 seres humanos (fazendeiros) examinados foram encontrados 14,9% infectados pelo *M. bovis*. E a principal via de transmissão identificada foi o consumo de leite e os produtos lácteos (FETENE; KEBEDE; ALEM, 2011).

Conclusão

Embora em alguns países em desenvolvimento o problema da tuberculose humana causada pelo *M. bovis* já tenha sido sanado, nos países de baixa e média renda a ocorrência dessa doença ainda é preocupante. Investigações são necessárias para a elucidação da importância de tal patógeno e para que se estime a ocorrência de tuberculose nos humanos, especialmente nestes países (WHO, 2009). Os esforços devem ser concentrados nos países em que a infecção pelo HIV está disseminada, pois os indivíduos infectados pelo HIV são mais susceptíveis à doença micobacteriana. Além disto, muitos relatos de infecção pelo *M. bovis* em humanos estão associados com a ingestão de leite não pasteurizado ou ingestão de queijos preparados com leite não pasteurizado (LOBUE et al., 2003; WINTERS et al., 2005). A erradicação do *M. bovis* nos bovinos e a pasteurização dos produtos lácteos são os alicerces para a prevenção da doença humana por esse microrganismo (ASHFORD; VOELKER; STEELE, 2006). Portanto, é necessário o incremento de esforços globais para a erradicação da infecção nos bovinos com ênfase na pasteurização dos produtos lácteos, bem como, intensificação nas ações de educação em saúde conscientizando a população não apenas sobre os riscos do consumo dos produtos lácteos não pasteurizados, mas também para as pessoas envolvidas em atividades pecuárias correlatas, diretas ou indiretamente expostas ao risco ocupacional. A identificação e eliminação dos rebanhos de bovinos infectados poderá resultar em economia substancial de esforços, especialmente nos países de baixa e média rendas que não possuam recursos para indenização dos fazendeiros pelas suas perdas (ZINSSTAG et al., 2006). Medidas de saúde pública padronizadas usadas para tratar os pacientes com *M. tuberculosis* poderão ser aplicadas para pacientes infectados com o *M. bovis*, com o intuito de cessar a possível disseminação pessoa a pessoa. Finalmente, estratégias específicas deverão ser desenvolvidas para a identificação e controle da infecção pelo *M. bovis* em animais silvestres, pois estes animais podem ser importantes fontes de infecção para os animais de produção (LOBUE; ENARSON; THOEN, 2010). Assim, serão necessárias lideranças internacionais e cooperações, junto com financiamentos contínuos para que se alcance a erradicação global da tuberculose zoonótica (MODA; VALPREDA, 1994; THOEN; LOBUE; KANTOR, 2010).

Referências

- ASHFORD, D. A.; WHITNEY, E.; RAGHUNATHAN, C. Epidemiology of selected mycobacteria that infect humans and other animals. *Revue Scientifique Technique Office des International of Epizooties*, v. 20, n. 1, p. 325-337, 2001.
- ASHFORD, D. A.; VOELKER, L.; STEELE, J. H. Bovine tuberculosis: environmental public health preparedness considerations for the future. In: THOEN, C. O.; STEELE, J. H.; GILSDORF, M. J. (Ed.). *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. 4. ed. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing, 2006. p. 305-315.
- AYELE, W. Y.; NEILL, S. D.; ZINSSTAG, J.; WEISS, M. G.; PAVLIK, I. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. *International Journal Tuberculosis Lung Disease*, v. 8, p. 924-937, 2004.
- BERG, S.; GARCIA-PELAYO, M. C.; MÜLLER, B.; HAILU, E.; ASIIMWE, B.; KREMER, K.; DALE, J.; BONIOTTI, M. B.; RODRIGUEZ, S.; HILTY, M.; RIGOUTS, L.; FIRDESSA, R.; MACHADO, A.; MUCAVELE, C.; NGANDOLO, B. N.; BRUCHFELD, J.; BOSCHIROLI, L.; MÜLLER, A.; SAHRAOUI, N.; PACCIARINI, M.; CADMUS, S.; JOLOBA, M.; VAN SOOLINGEN, D.; MICHEL, A. L.; DJØNNE, B.; ARANAZ, A.; ZINSSTAG, J.; VAN HELDEN, P.; PORTAELS, F.; KAZWALA, R.; KÄLLENUS, G.; HEWINSON, R. G.; ASEFFA, A.; GORDON, S. V.; SMITH, N. H. African 2, a Clonal Complex of *Mycobacterium bovis* Epidemiologically Important in East Africa. *Journal Bacteriology*, v. 193, n. 3, p. 670-678, 2011.
- BIER, O. Micobactérias. In: *Bacteriologia e imunologia*. 19. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1978. p. 585-610.
- BILAL, S.; IQBAL, M.; MURPHY, P.; POWER, J. Human bovine tuberculosis-remains in the differential. *Journal Medical Microbiology*, v. 59, p. 1379-1382, 2010. DOI:10.1099/jmm.0.020511-0.
- BROSCH, R.; GORDON, S. V.; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIER, K.; GARNIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; KREMER, K.; PARSONS, L. M.; PYM, A. S.; SAMPER, S.; VAN SOOLINGEN, D.; COLE, S. T. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proceedings National Academy Sciences of the United States America*, v. 99, n. 6, p. 3684-3689, 2002.
- WINTERS, A.; DRIVER, C.; MACARAIG, M.; CLARK, C.; MUNSIFF, S.S.; PICHARDO, C.; DRISCOLL, J.; SALFINGER, M.; KREISWIRTH, B.; JEREB, J.; LOBUE, P.; LYNCH, M. Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*-New York City, 2001-2004. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report*, v. 54, p. 605-608, 2005.
- COLE, S. T.; BROSCH, R.; PARKHILL, J. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, v. 393, p. 537-544, 1998.
- CORNER, L. A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 53-63, 1994.
- COUSINS, D. V.; BASTIDA, R.; CATALDI, A.; QUSE, V.; REDROBE, S.; DOW, S.; DUGNAN, P.; MURRAY, A.; DUPONT, C.; AHMED, N.; COLLINS, D. M.; BUTLER, W. R.; DAWSON, D.; RODRÍGUEZ, D.; LOUREIRO, J.; ROMANO, M. I.; ALITO, A.; ZUMARRAGA, M.; BERNARDELLI, A. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 53, p. 1305-1314, 2003.
- DE LA RUA-DOMENECH, R. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, v. 86, p. 77-109, 2006.
- DIAMOND, J. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, v. 418, p. 700-707, 2002.
- ENARSON, D. A.; RIEDER, H. L. The importance of *Mycobacterium bovis* to the tuberculosis epidemic in humans. In: THOEN, C. O.; STEELE, J. H. (Ed.). *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. Ames, IA, USA: Iowa State University Press, 1995.
- EVANS, J. T.; SONNENBERG, P.; GRACE SMITH, E. Bovine tuberculosis: multiple human-to-human transmission in the UK. *Lancet*, v. 14, p. 1270-1276, 2007.

- FETENE, T.; KEBEDE, N.; ALEM, G. Tuberculosis infection in animal and human populations in three districts of Western Gojam, Ethiopia. *Zoonoses Public Health*, v. 58, n. 1, p. 47-53, 2011. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2009.01265.x.
- FRANCIS, J. *Tuberculosis in animals and man*. London, UK: Cassell, 1958. p. 357.
- FRITSCHÉ, A.; ENGEL, R.; BHUL, D.; ZELLWEGER, J. P. *Mycobacterium bovis* tuberculosis: from animal to man and back. *International Journal Tuberculosis Lung Disease*, v. 8, p. 903-904, 2004.
- GILBERT, M.; MITCHELL, A.; BOURN, D.; MAWDSLEY, J.; CLIFTON-HADLEY, R.; WINT, W. Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain Periodical. *Nature*, v. 435, p. 491-496, 2005.
- GUTIERREZ, M. C.; BRISSE, S.; BROSCHE, R.; FABRE, M.; OMAIS, B.; MARMIESSE, M.; SUPPLY, P.; VINCENT, V. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, v. 1, p. 55, 2005.
- HLAVSA, M.; MOONAN, P. M.; COWAN, L. S.; NAVIN, T. R.; KAMMERER, J. S.; MORLOCK, G. P.; CRAWFORD, J. T.; LOBUE, P. A. Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*-United States, 1995-2005. *Clinical Infectious Diseases*, v. 47, n. 2, p. 168-175, 2008.
- KANTOR, I. N.; RITACCO, V. An update on bovine tuberculosis programmes in Latin American and Caribbean countries. *Veterinary Microbiology*, v. 112, p. 111-118, 2006.
- LARI, N.; RINDI, L.; CRISTOFANI, R.; RASTOGI, N.; TORTOLI, E.; GARZELLI, C. Association of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates of BOVIS and Central Asian (CAS) genotypic lineages with extrapulmonary disease. *Clinical Microbiology Infection*, v. 15, p. 538-543, 2009.
- LARI, N.; BIMBI, N.; RINDI, L.; TORTOLI, E.; GARZELLI, C. Genetic diversity of human isolates of *Mycobacterium bovis* assessed by spoligotyping and Variable Number Tandem Repeat genotyping. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 11, n. 1, p. 175-180, 2010. DOI:10.1016/j.meegid.2010.09.004.
- LOBUE, P. A.; BETACOURT, W.; PETER, C.; MOSER, K. S. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* disease in San Diego County, 1994-2000. *International Journal Tuberculosis Lung Disease*, v. 7, p. 180-185, 2003.
- LOBUE, P. Public health significance of *M. bovis*. In: THOEN, C. O.; STEELE, J. H.; GILSDORF, M. J. (Ed.). *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans. 2. ed. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing, 2006. p. 6-12.
- LOBUE, P. A.; ENARSON, D. A.; THOEN, C. O. Tuberculosis in humans and animals: an overview. *International Journal Tuberculosis Lung Disease*, v. 14, n. 9, p. 1075-1078, 2010.
- LOMME, J. R.; THOEN, C. O.; HIMES, E. M.; VINCENT, J. W.; KING, R. E. *Mycobacterium tuberculosis*: infection in two East African Oryxes. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 169, n. 9, p. 912-914, 1976.
- MAJLOOR, C. J.; MAGIS-ESCURRA, C.; VAN INGEN, J.; BOEREE, M. J.; VAN SOOLINGEN, D. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* Disease in Humans, the Netherlands, 1993-2007. *Emerging Infectious Diseases*, v. 17, n. 3, p. 457-463, 2011.
- MICHEL, A. L.; MÜLLER, B.; VAN HELDEN, P. D. *Mycobacterium bovis* at the animal-human interface: A problem, or not? *Veterinary Microbiology*, v. 140, p. 371-381, 2010.
- MILIAN-SUAZO, F.; BANDA-RUIZ, V.; RAMIREZ-CASILLAS, C.; ARRIAGA-DÍAZ, C. Genotyping of *Mycobacterium bovis* by geographic location within Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 55, n. 4, p. 255-264, 2002.
- MODA, G.; VALPREDA, M. Bovine tuberculosis eradication: need of collaboration between physicians and veterinarians. *Alpe Adria Microbiology Journal*, v. 3, p. 296-297, 1994.
- MÜLLER, B.; STEINER, B.; BONFOH, B.; FANÉ, A.; SMITH, N. H.; ZINSSTAG, J. Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* isolated from cattle slaughtered at the Bamako abattoir in Mali. *BMC Veterinary Research*, v. 4, p. 26, 2008. DOI:10.1186/1746-6148-4-26.
- MYERS, J. A.; STEELE, J. H. *Bovine tuberculosis control in man and animals*. St. Louis, Missouri, USA: Warren H. Green, Inc., 1969.
- OLSEN, I.; BARLETTA, R. G.; THOEN, C. O. *Mycobacterium*. In: GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 4. ed. Ames, IA, USA: Blackwell/Wiley, 2010. p. 113-139.
- O'REILLY, L. M.; DABORN, C. J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tuberculosis Lung Disease*, v. 76, p. 1-46, 1995. Supplement, 1.
- RENWICK, A. R.; WHITE, P. C.; BENGIS, R. G. Bovine tuberculosis in southern African wildlife: a multi-species host-pathogen system. *Epidemiology Infection*, v. 135, n. 4, p. 529-540, 2007.
- RODRÍGUEZ, E.; SÁNCHEZ, L. P.; PÉREZ, S.; HERRERA, L.; JIMÉNEZ, M. S.; SAMPER, S.; IGLESIAS, M. J. Human tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* and *M. caprae* in Spain, 2004-2007. *International Journal Tuberculosis Lung Disease*, v. 13, n. 12, p. 1536-1541, 2009.
- RODRIGUEZ-CAMPOS, S.; SCHÜRCH, A. C.; DALE, J.; LOHAN, A. J.; CUNHA, M. V.; BOTELHO, A.; CRUZ, K. D.; BOSCHIROLI, M. L.; BONIOTTI, M. B.; PACCIARINI, M.; GARCIA-PELAYO, M. C.; ROMERO, B.; DE JUAN, L.; DOMÍNGUEZ, L.; GORDON, S. V.; VAN SOOLINGEN, D.; LOFTUS, B.; BERG, S.; HEWINSON, R. G.; ARANAZ, A.; SMITH, N. H. European 2 – A clonal complex of *Mycobacterium bovis* dominant in the Iberian Peninsula. *Infection Genetics Evolution*, v. 12, n. 4, p. 866-872, 2011.
- RODWELL, T. C.; MOORE, M.; MOSER, K. S.; BRODINE, S. K.; STRATHDEE, S. A. Tuberculosis from *Mycobacterium bovis* in binational communities, United States. *Emerging Infectious Diseases*, v. 14, p. 909-916, 2008.
- ROTHSCHILD, B. M.; MARTIN, L. D. Did ice-age bovids spread tuberculosis? *Naturwissenschaften*, v. 93, p. 565-569, 2006.
- SCHMITT, S. M.; O'BRIEN, D. J.; BRUNING-FANN, C. S.; FITZGERALD, S. D. Bovine tuberculosis in Michigan wildlife and livestock. *Annual New York Academy Science*, v. 969, p. 262-268, 2002.
- SELWYN, P. A.; HARTEL, D.; LEWIS, V. A.; SCHOENBAUM, E. E.; VERMUND, S. H.; KLEIN, R. S.; WALKER, A. T.; FRIEDLAND, G. H. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *New England Journal Medicine*, v. 230, n. 9, p. 545-550, 1989.
- SHRIKRISHNA, D.; DE LA RUA-DOMENECH, R.; SMITH, N. H.; COLLOFF, A.; COUTTS, I. Human and Canine pulmonary *Mycobacterium bovis* infection in the same household: re-emergence of an old zoonotic threat? *Thorax*, v. 64, n. 1, p. 89-91, 2009.
- SMITH, N. H.; GORDON, S. V.; DE LA RUA-DOMENECH, R.; CLIFTON-HADLEY, R. S.; HEWINSON, R. G. Bottlenecks and broomsticks: the molecular evolution of *Mycobacterium bovis*. *Nature Reviews Microbiology*, v. 4, p. 670-681, 2006.
- SMITH, N. H. The global distribution and phylogeography of *Mycobacterium bovis* clonal complexes. *Infection Genetics and Evolution*, v. 12, n. 4, p. 857-865, 2011a.
- SMITH, N. H. B. S.; DALE, J.; ALLEN, A.; RODRIGUEZ, S.; ROMERO, B.; MATOS, F.; GHEBREMICHAEL, S.; KAROUI, C.; DONATI, C.; MACHADO, A. C.; MUCAVELE, C.; KAZWALA, R. R.; HILTY, M.; CADMUS, S.; NGANDOLO, B. N.; HABTAMU, M.; OLOYA, J.; MULLER, A.; MILIAN-SUAZO, F.; ANDRIEVSKAIA, O.; PROJAHN, M.; BARANDIARÁN, S.; MACÍAS, A.; MÜLLER, B.; ZANINI, M. S.; IKUTA, C. Y.; RODRIGUEZ, C. A.; PINHEIRO, S. R.; FIGUEROA, A.; CHO, S. N.; MOSAVARI, N.; CHUANG, P. C.; JOU, R.; ZINSSTAG, J.; VAN SOOLINGEN, D.; COSTELLO, E.; ASEFFA, A.; PROAÑO-PÉREZ, F.; PORTAELS, F.; RIGOUTS, L.; CATALDI, A. A.; COLLINS, D. M.; BOSCHIROLI, M. L.; HEWINSON, R. G.; FERREIRA NETO, J. S.; SURUJBALLI, O.; TADYON, K.; BOTELHO, A.; ZÁRRAGA, A. M.; BULLER, N.; SKUCE, R.; MICHEL, A.; ARANAZ, A.; GORDON, S. V.; JEON, B. Y.; KÄLLENIUS, G.; NIEMANN, S.; BONIOTTI, M. B.; VAN HELDEN, P. D.; HARRIS, B.; ZUMÁRRAGA, M. J.; KREMER, K. European 1: A globally important clonal complex of *Mycobacterium bovis*. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 11, n. 6, p. 1340-1351, 2011b.

TAYLOR, G. M.; WORTH, D. R.; PALMER, S.; JAHANS, K.; HEWINSON, R. G. Rapid detection of *Mycobacterium bovis* DNA in cattle lymph nodes with visible lesions using PCR. **BMC Veterinary Research**, v. 3, p. 12, 2007.

TAYLOR, G. M.; YOUNG, D. B.; MAYS, S. A. Genotypic analysis of the earliest known prehistoric case of tuberculosis in Britain. **Journal Clinical Microbiology**, v. 43, p. 2236-2240, 2005.

THOEN, C. O. Tuberculosis in wild and domestic mammals. In: BLOOM, B. R. (Ed.). **Tuberculosis: pathogenesis, protection and control**. Washington DC, USA: American Society for Microbiology Press, 1994. p. 157-162.

THOEN, C. O. Tuberculosis. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. (Ed.). **Diseases of swine**. 9th ed. Ames, IA, USA: Blackwell, 2006. p. 807-816.

THOEN, C. O.; LOBUE, P.; KANTOR, I. N. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. **Veterinary Microbiology**, v. 112, p. 339-345, 2006.

THOEN, C. O.; LOBUE, P. A.; ENARSON, D. A.; KANEENE, J. B.; KANTOR, I. N. Tuberculosis: a re-emerging disease in animals and humans. **Veterinaria Italiana**, v. 45, n. 1, p. 135-181, 2009.

THOEN, C. O.; LOBUE, P. A.; DE KANTOR, I. Why has zoonotic tuberculosis not received much attention? **International Journal Tuberculosis and Lung Disease**, v. 14, n. 9, p. 1073-1074, 2010.

TIRUVILUAMALA, P.; REICHMAN, L. B. Tuberculosis. **Annual Review Public Health**, v. 23, p. 403-426, 2002.

TORGERSON, P.; TORGERSON, D. Benefits of stemming bovine TB need to be demonstrated. **Nature**, v. 457, p. 657, 2009.

WEBB, G. B. **Clio medical: tuberculosis**. New York: Paul B. Hoeber, 1936.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control 2009: epidemiology, strategy, financing**. WHO/HTM/TB/2009.411. Geneva, Switzerland: WHO, 2009.

WIRTH, T.; HILDEBRAND, F.; ALLIX-BEGUEC, C.; WOLBELING, F.; KUBICA, T.; KREMER, K.; VAN SOOLINGEN, D.; RÜSCH-GERDES, S.; LOCHT, C.; BRISSE, S.; AXEL MEYER, A.; PHILIP SUPPLY, P.; NIEMANN, S. Origin, spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **PLoS Pathogens**, v. 4, n. 9, e1000160, 2008. DOI:10.1371/journal.ppat.1000160

ZIGNOL, M.; HOSSEINI, M. S.; WRIGHT, A. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis. **Journal Infection Diseases**, v. 194, p. 479-485, 2006.

ZINSSTAG, J.; SCHELLING, E.; ROTH, F.; KAZWALA, R. Economics of bovine tuberculosis. In: THOEN, C. O.; STEELE, J. H.; GILSDORF, M. J. (Ed.). ***Mycobacterium bovis* infection in animals and humans**. 2. ed. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing, 2006. p. 68-83.

Perfil Celular do Coloostro de Éguas: Estudo Preliminar

Cellular profile of mares colostrum: a preliminary study

Resumo

Existem poucos trabalhos na literatura relativos aos tipos de leucócitos presentes no coloostro e no leite de éguas. Recentes trabalhos realizados em animais de produção sugerem que os leucócitos do coloostro podem desempenhar um importante papel na transferência passiva de imunidade da mãe para o neonato. Esse estudo teve como objetivo caracterizar a população de leucócitos presente no coloostro de éguas clinicamente saudáveis utilizando a microscopia óptica. As amostras de coloostro utilizadas foram provenientes de 20 éguas, 12 da raça Mangalarga Marchador e 8 da raça Quarto de Milha. O tipo celular predominante na maioria das amostras estudadas foi o macrófago, seguida pelos neutrófilos e linfócitos. Esses resultados podem proporcionar um ponto de partida para futuros estudos de investigação sobre o papel dos leucócitos colostrais na transferência de imunidade da égua para o potro.

Summary

There are few reports on which leukocytes are present in the colostrum and milk of mares. Recent studies in farm animals suggest a role for colostrum leukocytes in the transfer of passive immunity from dam to neonate. The aim of this study was to characterize the population of leukocytes present in colostrum from clinically healthy mares, using the light microscopy. Colostrum samples were collected from 20 mares, 12 Mangalarga Marchador and 8 Quarter Horse. Macrophages were the predominant cell type in most samples studied followed by neutrophils and lymphocytes. These results may be a starting point for future studies investigating the role of colostrum leukocytes in the transfer of immunity from mare to foal.

Bruna Busianov Zaharov Simon¹
Neimar Vanderlei Roncati²
Alma Yasodhara Alexandra Hoge³
Ana Carolina Rusca Correa Porto³

Rua Dr. Almeida Lima, n.1134, Mooca, cep: 03164-000, São Paulo/SP
☎ +55 11 973299466
✉ brunabusianov@hotmail.com



Palavras-chave

Colostro. Potros. Transferência de imunidade passiva. Leucócitos.

Keywords

Tuberculosis. Zoonoses. Human health.
Mycobacterium bovis.

Os neonatos equinos nascem agamaglobulinêmicos, sendo dependentes da ingestão de imunoglobulinas colostrais e falhas na transferência passiva destes anticorpos podem levar a infecções neonatais. Os potros iniciam o desenvolvimento das funções imunes no período intrauterino, porém de maneira pouco satisfatória. O desenvolvimento da resposta imune só é realmente estimulado após o nascimento, quando os potros entram em contato com os microorganismos do ambiente (FLAMINIO et al., 2000; BOYD et al., 2003; HOLZNAGEL et al., 2003; TALLMADGE et al., 2009). Até que os animais respondam de uma maneira eficaz aos desafios ambientais, eles permanecem em um período crítico com maior suscetibilidade as infecções neonatais (GARDNER et al., 2007).

Mesmo quando não há falhas na transferência de imunoglobulinas via colostro, os equinos neonatos permanecem suscetíveis a uma variedade de patógenos que raramente afetam equinos adultos, como *Rhodococcus equi*, *Pneumocystis carini*, *Candida albicans* e rotavírus (BOYD et al., 2003; HOROHOV et al., 2006). Muito se fala sobre a importância dos anticorpos do colostro para a proteção do neonato, mas pouco se sabe sobre o papel dos leucócitos contidos no colostro na proteção contra infecções. Estudos realizados com animais de produção demonstram a existência de um número significativo

1 Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, SP – Brasil

2 Professor Doutor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, SP – Brasil.

3 Pesquisadora do Instituto de Fomento Veterinário, Cotia, SP – Brasil.

de leucócitos no colostro e sabe-se que em ovinos, suínos e bovinos esses leucócitos são funcionais e podem aumentar a expressão de marcadores de superfície, indicando ativação (TURNER et al., 2003). Foi demonstrado que, após a ingestão, estas células presentes no colostro possuem a capacidade de cruzar a barreira da mucosa intestinal do neonato e de se instalarem em linfonodos mesentéricos, sangue, pulmões, fígado e baço, onde contribuem para as defesas imunitárias do neonato (LE JAN, 1996). Não foram encontrados na literatura relatos sobre o perfil celular do colostro de éguas sadias, havendo apenas descrições em éguas com mastite (FREEMAN, 1993).

O papel das células contidas no colostro humano foi estabelecido na década de 70 quando foi demonstrado que além da importância das células fagocíticas (HO; LAWTON, 1978; ROBINSON; HARVEY; SOOTHILL, 1978), os linfócitos contidos nessas secreções possuem a capacidade de proliferação *in vitro* frente a diversos mitógenos e antígenos (PARMELEY; BEER; BILLINGHSM, 1976; OGRA; OGRA, 1978). Hoje se sabe que os componentes imunes do colostro e do leite são importantes para todos os jovens mamíferos (WHEELER et al., 2007; STELWAGEN et al., 2009), porém raros trabalhos foram desenvolvidos com a espécie equina.

As citocinas estão presentes no colostro equino e podem desempenhar papéis fundamentais no desenvolvimento imune precoce dos potros (SECOR; MATYCHAK; FELIPPE, 2012). Tais observações ressaltam a necessidade de se investigar os componentes celulares do colostro equino e determinar qual a sua função. Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar o perfil celular do colostro de éguas clinicamente sadias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas doze éguas prenhes da raça Mangalarga Marchador e oito éguas prenhes da raça Quarto de Milha, com cinco e dezesseis anos de idade e mantidas em piquetes de capim *coast cross* durante todo o período gestacional. Além do capim, os animais receberam ração comercial duas vezes ao dia e água *ad libitum*. Foram realizadas vacinações contra rinopneumonite equina (Herpes Horse, Laboratórios Vencofarma do Brasil, Londrina, PR, BR) nos quinto e sétimo mês de gestação e contra rinopneumonite, tétano, encefalomielite e influenza equina (Lexington, Laboratórios Vencofarma do Brasil, Londrina, PR, BR) no nono mês de gestação. Nenhum dos animais apresentava manifestações clínicas de mastite.

Colheita de colostro e preparação das amostras

Foi colhida uma amostra de 100 mL de colostro, em até seis horas após o nascimento do potro. As amostras foram diluídas com o mesmo volume de *phosphate buffered saline* (PBS) e centrifugadas a 1000 x g por 15 minutos a 4 °C, Koess e Hamann (2008). Após a centrifugação, o sobrenadante foi desprezado pela inversão única do frasco. O botão celular, conservado na superfície inferior do frasco foi removido por meio de aspersão gentil com 30 mL de PBS. Uma nova centrifugação foi realizada a 400 x g por 10 minutos a 4° C. Após desprezar o sobrenadante as células foram ressuspendidas em 1mL de meio de cultivo celular (RPMI 1640, Cultilab, Campinas, SP, BR) enriquecido com soro fetal bovino 10% (SFB, Cultilab, Campinas, SP, BR) (KOESS; HAMANN, 2008).

Avaliação do perfil celular do colostro

Para avaliação das porcentagens celulares, amostras de 100mL de suspensões celulares foram centrifugadas a 28 x g durante seis minutos, em citocentrífuga. As lâminas foram fixadas com álcool metílico e coradas com corante Panotico (Panotico Rápido, LaborClin, Pinhais, PR, BR). A leitura das lâminas foi realizada por microscopia óptica de imersão em aumento de 1000x. Para a contagem diferencial foram analisadas 100 células.

Resultados e discussão

Pode-se observar uma grande variação no perfil celular das amostras de colostro estudadas. A célula predominante na maioria das amostras foi o macrófago (9/20), seguido pelo neutrófilo (7/20) e linfócito (4/20) (Tabela 1). Raros eosinófilos foram observados.

Pode-se notar que os macrófagos na sua maioria possuíam vacúolos contendo gotas de lipídios ou debris celulares, assim como observado com o colostro de outras espécies (LEE; MCCAULEY; HARTMAN, 1983) (Figura 1).

Em seis das sete amostras que apresentaram uma maior concentração de neutrófilos foram observados a presença de bactérias e alto grau de degeneração dos neutrófilos (Figura 2). Lee, Peter Wooding e Kemp (1980) e Evans et al. (1982), em amostras de bovinos e suínos, constataram que o neutrófilo foi o tipo celular predominante no colostro, mesmo quando não foi detectada infecção. Resultado semelhante foi observado por Lee e Outteridge (1981) onde foi demonstrada a predominância no colostro de ovelhas de polifomorfonucleares (41-84%) seguidos por macrófagos (8-49%) e linfócitos (6-11%). Os neutrófilos, assim como os macrófagos são responsáveis por fagocitar não apenas os microorganismos como também debris celulares e

Animal	Tipo celular			
	Macrófagos	Neutrófilos	Linfócitos	Eosinófilos
1	21	33	43	3
2	33	11	56	-
3	61	18	21	-
4	100	0	0	-
5	29	41	29	-
6	48	26	16	-
7	42	34	22	-
8	26	49	23	2
9	27	69	7	-
10	24	34	42	-
11	8	59	21	-
12	23	47	26	1
13	97	14	17	-
14	77	10	13	-
15	63	29	8	-
16	70	13	17	-
17	2	98	3	-
18	52	27	21	-
19	18	39	42	-
20	18	64	22	-

TABELA 1 – Contagem diferencial de células do colostro de éguas clinicamente sadias

gotículas de gordura, porém de uma maneira menos eficiente. O neutrófilo também foi o tipo celular predominante encontrado no colostro e leite de fêmeas cobaias (NORDIN; LEE, 1982).

Na espécie equina (TURNER et al., 2003) demonstrou por meio de citometria de fluxo, porcentagens médias de neutrófilos, macrófagos, linfócitos e células epiteliais de 13,2%; 22,4%; 63,2% e 1,3% respectivamente após a utilização de imunostimulantes. Tal resultado difere do encontrado no presente trabalho, contudo os grupos não são comparáveis, já que as éguas aqui estudadas não foram submetidas a nenhuma estimulação e as técnicas empregadas foram diferentes.

Poucas células epiteliais foram observadas (0-1%) concordando com a descrição efetuada em ovelhas (LEE; OUTERIDGE, 1981), porcas (EVANS et al., 1982) e cobaias (NORDIN; LEE, 1982).

A despeito do pouco conhecimento sobre o perfil celular do colostro equino, bem como das suas funções, foi demonstrado que assim como em outras espécies, o colostro equino contém componentes imunes além das imunoglobulinas (DAVIS, 2012). Secor, Matychak e Felipe (2012) determinaram os níveis do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no colostro equino e

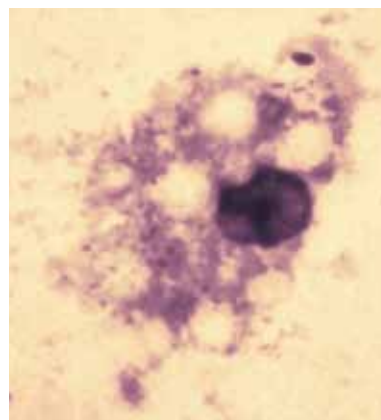


FIGURA 1 – Fotomicrografia de macrófago do colostro equino, contendo gotas de lipídeos, identificado morfológicamente por microscopia óptica de imersão (1000x)

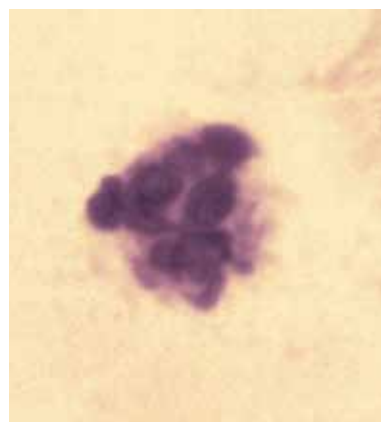


FIGURA 2 – Fotomicrografia de neutrófilo degenerado do colostro equino identificado morfológicamente por microscopia óptica de imersão (1000x)

investigaram a correlação desse fator no colostro e no soro dos potros. O TNF- α é um produto dos leucócitos e constitui um componente imune essencial pelos seus efeitos diretos ou regulatórios sobre a ação de citocinas em diversas células do hospedeiro levando morte de patógenos. Foram obtidas evidências de que o TNF- α transferido pelo colostro pode desempenhar um importante papel na manutenção da saúde dos potros (SECOR; MATYCHAK; FELIPPE, 2012). O estudo dos componentes imunes do colostro equino associado à distribuição e dinâmica celular pode prover informações que poderão contribuir na tentativa de aumentar a sobrevivência de potros comprometidos.

Conclusão

A célula predominante na maioria das amostras estudadas foi o macrófago. Novos estudos devem ser realizados para a avaliação das variações do perfil celular no colostro e no leite de éguas, considerando-se o tempo, e correlacionando-se o possível papel dessas células na resposta imune dos potros neonatos.

Referências

1. BOYD, N. K.; COHEN, N. D.; LIM, W. S.; MARTENS, R. J.; CHAFFIN, M. K.; BALL, J. M. Temporal changes in cytokine expression of foals during the first month of life. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 92, p. 75-85, 2003.
2. DAVIS, E. Maintaining health in foals: the role of colostrum constituents. **Veterinary Records**, v. 170, n. 2, p. 49-50, 2012.
- a. EVANS P. A.; NEWBY, T. J.; STOKES, C. R.; BOURNE, F. J. A study of cells in the mammary secretions of sows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 3, n. 5, p. 515-527, 1982.
3. FLAMINIO, M. J.; RUSH, B. R.; DAVIS, E. G.; HENNESSY, K.; SHUMAN, W.; WILKERSON, M. J. Characterization of peripheral blood and pulmonary leukocyte function in healthy foals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 73, n. 3-4, p. 267-285, 2000.
4. FREEMAN, K. P. Cytological evaluation of the equine mammary gland. **Equine Veterinary Education**, v. 5 p. 212, 1993.
5. GARDNER, R. B.; NYDAM, D. V.; LUNA, J. A.; BICALHO, M. L.; MATYCHAK, M. B.; FLAMINIO, M. J. Serum opsonization capacity, phagocytosis, and oxidative burst activity in neonatal foals in the intensive care unit. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 4, p. 797-805, 2007.
6. HO, P. C.; LAWTON, J. W. M. Human colostrum cells: Phagocytosis and killing of *E. coli* and *C. albicans*. **Journal Pediatric**, v. 93, p. 910-915, 1978.
7. HOLZNAGEL, D. L.; HUSSEY, S.; MIHALYI, J. E.; WILSON, W. D.; LUNN, D. P. Onset of immunoglobulin production in foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 35, n. 6 p. 620-622, 2003
8. HOROHOV, D. W.; STURGILL-WRIGHT, T.; STILTNER J. L.; ADAMS, A. A.; LUNN, D. P.; HOROHOV, D. W. Foals are interferon gamma-deficient at birth. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 112, n. 3-4, p. 119-209, 2006.
9. KOESS, C.; HAMANN, J. Detection of mastitis in the bovine mammary gland by flow cytometry. **Journal of Dairy Research**, v. 75, n. 2, p. 225-232, 2008.
10. LEE C. S.; MCCAULEY, I.; HARTMAN, P. E. Light and Electron Microscopy of cells in pig colostrum, milk and Involution Secretion. **Acta Anatomica**, v. 117, n. 3, p. 270-280, 1983.
11. LEE, C. S.; OUTERIDGE, P. M. Leucocytes of sheep colostrum, milk and involution secretion, with particular reference to ultrastructure and lymphocyte sub-populations. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 2, p. 225-237, 1981.
12. LEE C. S.; PETER WOODING, F. B. P.; KEMP, P. Identification, properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows. **Journal of Dairy Research**, v. 47, n. 1, p. 39-50, 1980.
13. LE JAN, C. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: A review. **Veterinary Research**, v. 27, n. 4-5, p. 403-417, 1996.
14. NORDIN, W.; LEE, C. S. Cytology of Milk in Guinea Pigs. **Acta Anatomica**, v. 113, p. 135-144, 1982.
15. OGRA, S. S.; OGRA, P. L. Immunologic aspects of human colostrum and milk. II. Characteristics of lymphocytic reactivity and distribution of E. rosette primary cells at different times after the onset of lactation. **Journal Pediatric**, v. 92, p. 550-555, 1978.
16. PARMELEY, M. J.; BEER, A. A. E.; BILLINGHSM; R. E. In vitro studies on T lymphocyte population of human milk. **The Journal Experimental Medicine**, v. 144, p. 358-370, 1976.
17. ROBINSON, J. E.; HARVEY, B. A. M.; SOOTHILL; J. F. Phagocytosis and killing of bacteria and yeast by human milk cells after opsonisation in aqueous phase of milk. **British Medical Journal**, v. 1, p. 1443-1445, 1978.
18. SECOR, E. J.; MATYCHAK, M. B.; FELIPPE, M. J. B. Transfer of tumour necrosis factor - α via colostrum to foals. **Veterinary Record**, v. 170, n. 2, p. 51, 2012.
19. STELWAGEN, K.; CARPENTER, E.; HAIGH, B.; HODGKINSON, A.; WHEELER, T. T. Immune components of bovine colostrum and milk. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3-9, 2009.
20. TALLMADGE, R. L.; MCLAUGHLIN, K.; SECOR, E.; RUANO, D.; MATYCHAK, M. B.; FLAMINIO, M. J. Expression of essential B cell genes and immunoglobulin isotypes suggests active development and gene recombination during equine gestation. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 33, p. 1027-1038, 2009.
21. TURNER, J. L.; PAS, M. J.; PAS, A. R. N. S.; MINTON, J. E. Effects of Non-Specific Immunostimulation of Prepartum Mares on Colostral Quality and Foal Immune Function. **The Professional Animal Scientist**, v. 19, p. 62-67, 2003.
22. WHEELER, T. T.; HODGKINSON, A. J.; PROSSER, C. G.; DAVIS, S. R. Immune components of colostrum and milk-A historical perspective. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 12, n. 4, p. 237-247, 2007.



XXIII RITA

XXIII RITA Brazil – Rabies in the Americas

XXIII Reunião Internacional da Raiva nas Américas

14 a 18 de outubro de 2012

Hotel Maksoud Plaza

São Paulo – Brasil

CO.01

REAL TIME PCR FOR ANTEMORTEM DIAGNOSIS IN HUMANS AND HIGH THROUGHPUT RABIES VIRUS SCREENING

Zarate-Segura P^{1,1}, Bastida-Gonzalez F¹, Ellison J², Gallardo-Romero N³, Loparev V⁴, Velasco-Villa A² – ¹Instituto Politecnico Nacional, MEX – ESM-UPIBI, ²Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta USA – Rabies Section, ³Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta USA – POX Section, ⁴Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta USA – Biotechnology Core Facility

Rabies is one of the oldest and most devastating diseases, typically a 100% case mortality rate. *Antemortem* rabies diagnosis in humans is important to institute infection control procedures and avoid further exposures of health personnel and other people who may have been in contact with saliva of the patient, to determine epidemiologically if other individuals were exposed to the same source, to monitor disease progression during experimental therapeutic interventions, to prevent cross infection during organ transplantation, and if negative, to examine other differential diagnoses. Four samples are recommended for *antemortem* testing of rabies in humans (saliva, serum, nuchal skin biopsy and cerebrospinal fluid) in which antibodies, viral antigens and nucleic acids are detected using neutralization, indirect and direct immunofluorescence and reverse transcription PCR methods. The turnaround time to provide conclusive results on all four samples analyzed by all techniques is approximately 24 to 48 hrs. Real time PCR appears to be one promising technique to expedite results on nucleic acid detection and accurately quantitate viral loads in patient samples. However, there is no universal primer or probe that may detect the broad lyssavirus diversity described to date, which decreases the sensitivity of the test dramatically. The objective of this study was the design of a sensitive and specific real-time PCR assay to detect and quantitate a broad variety of rabies viruses in *antemortem* and postmortem samples from human/animal tissues and bodily fluids. **Methods.** More than 2500 complete nucleoprotein sequences of RABV representative of a global spectrum of variants from the GenBank and CDC databases were analyzed to design 12 sets of broadly reactive primers and probes. Two primer sets and probes from the literature were concomitantly considered. A total of 14 primer sets and probes were tested both in silicon and with a panel of 20 viral isolates (representing a broad variety of RABV circulating in bat and carnivores worldwide) using end point reverse transcription PCR and real time PCR assays run in both a Light Cycler 480 (Roche, Germany) and CFX96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad, USA) Detection System for comparative purposes. A droplet digital PCR system QX100 (Bio-Rad Laboratories, Inc) was used to assess the number of copies of amplicons per sample. To confirm detection, PCR products were sequenced and identified in the BLAST NCBI database. **Results.** The prior primer sets and probes from the literature had limited sensitivity circumscribed to RABV circulating in respective regions of Asia and Africa. None of the primer sets and probes we designed was able to detect all viruses tested alone. However, a minimal set of five primers and probes used concomitantly in separate reactions were able to detect all RABV included in this study. The system was sensitive enough to detect up to 5 copies of amplicon.

Conclusions. Real time PCR is a highly sensitive and specific technique yet there is no single set of broadly reactive primers and probes capable of detecting all the existing lyssavirus diversity. We described five broadly reactive primer sets that were used concomitantly in a 96 well platform to detect all RABV reported globally. This format is suitable for rabies *antemortem* diagnosis in humans and for high throughput screening of field samples. Additional research on a quantitative assay will not only be able to assess the number of copies of amplicons, but also correlate with an estimated total number of viable viral particles. **Reference** Wacharapluesadee S, *et al.* Expert Rev Mol Diagn. 10(2):207, 2010. Coertse J, *et al.* J Clin Microbiol. 48(11):3949, 2010.

CO.03

MONITORING OF A FRENCH BAT COLONY SHOWN NATURALLY INFECTED BY EBLV-1 FROM 2009-2012. DISCOVERY OF A NEW INFECTION CASE IN THE COLONY THREE YEARS AFTER THE FIRST POSITIVE RABIES DIAGNOSTIC.

Picard-Meyer E^{1,2} – ¹C. Borel, D. Jouan – CPEPESC Lorraine, France, ²A. Servat, M. Wasniewski, M. Moinet, F. Boué, F. Cliquet – ANSES – Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife

The passive surveillance of bat rabies was improved in France since 2000, thanks to a National bat rabies network constituted by Veterinary Services and bat handlers from the Chiroptera group (Société Française pour l'Etude et la Protection des Mammifères). To date, 59 *Eptesicus serotinus* were shown infected by the European Bat Lyssavirus type 1 (EBLV-1) in France out of 950 cases reported throughout Europe. In the context of the passive surveillance, we reported for the first time in June 2009 in France, in the village of Ancy sur Moselle (located in the north east of the country), six positive cases in a colony of *Eptesicus serotinus* naturally shown infected by EBLV-1. The field studies, carried out from 2009-2012 on 186 tested bats with vaccinated bat specialists showed a fall of the seroprevalence by 5. In 2009, 45% blood samples were shown positive with a modified FAVNt adapted for bat micro-samples for the presence of neutralizing EBLV-1 antibodies against 8% in 2011. Three years after the first report of the EBLV-1 infection in the colony of Ancy Sur Moselle, a new positive case was reported into the reproduction colony at the end of July 2012. The colony was constituted by 80 bats in May and by 46 animals at the end of July. Similarly to 2009, the case was reported on a juvenile female and the isolated virus was EBLV-1b. Thanks to the education of bat workers to the risks of bat rabies, a new positive case was detected on July 23, 2012 in Eastern France on a *Myotis naterreri*. This species was recently shown infected by BBLV (Bokeloh Bat Lyssavirus) in Germany. To date, this is the first case reported in France on the species *Myotis naterreri*. This case was found in a village distant of 40 km from Ancy sur Moselle. The monitoring of the colony from Ancy sur Moselle with the results of field studies investigated from 2009-2012 will be presented and discussed as well as the new case of infection diagnosed on *Myotis naterreri*.

CO.04**NOVEL LYSSAVIRUS FROM A MINIOPTERUS SCHREIBERSII BAT IN SPAIN.**

Aréchiga N^{1,2}, Vázquez-Morón S^{1,3}, Berciano J^{1,3}, Nicolás O⁴, Aznar C^{1,3}, Juste J⁵, Rodríguez C⁶, Aguilar A², Echevarría J¹ – ¹Instituto de Salud Carlos III – Centro Nacional de Microbiología, Majadahonda, Madrid, España, ²Centro Médico Nacional Siglo XXI, México – Unidad de Investigación Médica en Inmunología, ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España, ⁴Centro de Recuperación de Fauna de Vallalant, Lleida, Cataluña, España, ⁵Estación Biológica de Doñana (CSIC), Sevilla, Andalucía, España, ⁶Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, España.

In the frame of the Spanish Rabies Surveillance Program, a bat carcass was received on March 12th, 2012, in the Centro Nacional de Microbiología (National Center of Microbiology) (CNM). The bat was found in the city of Lleida, in July 2011, and it was taken to the Wildlife Care Center of Vallalant (Lleida, Catalonia). The bat died soon after admission. Two different RT-PCR generic methods for the *Lyssavirus* genus (1,2) and two commercial rabies antisera for antigen detection were used for diagnosis. Brain smears were positive for both, FAT and RT-PCR, as well as the oropharyngeal swab for RT-PCR. The bat was morphologically and molecularly identified as *Miniopterus schreibersii* (3). To determine the identity of the virus, a fragment of the nucleoprotein gene (N) was sequenced. Dataset representative of all *Lyssaviruses*, including the recently described IKOV, was used for the phylogenetic reconstruction. The topology obtained by Bayesian Inference (BI) showed a new virus related more to IKOV and WCBV than any other lyssavirus included in phylogroups I and II. These results suggest a new virus, named *Lleida bat lyssavirus* (LLEBV), taking in consideration the locality where the bat was found. In Europe, from 1977 to 2011, a total of 988 cases of bat rabies were reported; *Eptesicus serotinus* and *E. isabellinus* which account for more than 95% of the cases are considered the major natural reservoirs of EBLV-1. Several *Myotis* spp. are reservoirs for EBLV-2, BBLV, ARAV, and KHUV(4). In Spain, EBLV-1 has only been described in *E. isabellinus* (5). Interestingly, the lowest nucleotide identity shown by LLEBV was with EBLV-1. The LLEBV has been detected on *M. schreibersii* such as WCBV. *Miniopterus* genus presently belongs to the *Vespertilionidae* family as the other bat genera linked to lyssaviruses in Eurasia (*Eptesicus*, *Myotis* and *Murina*). However, recent molecular analyses have postulated the group as an independent monospecific *Miniopteridae* family (6). *M. schreibersii* is a migratory bat, widely distributed throughout Southern Europe and Eurasia. This bat specie gathers in caves in large numbers (thousands) for wintering, moving in spring to different and sometimes distant summer roosts for reproduction. Due to its migratory habits and typically large size of populations of this bat, it is quite probable that once an infectious agent is introduced, it may spread quickly within populations. The evolutionary relationships between the new LLEBV with WCBV and IKOV need to be clarified to determine whether they will form one or more phylogroups. Further analyses are in process to assess this question and to establish a probable potential role as a human pathogen. More studies must be done in order to evaluate ecological aspects of LLEBV circulation. Nidia Aréchiga Ceballos is post-doctoral fellow granted by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) Mexico. This research was financially supported by the project SAF 2009-09172 of the General Research Program of the Spanish Ministry of Science and Education. **References:** 1. Echevarría JE, et al. J Clin Microbiol.; 39: 3678-83. 2001. 2. Vázquez-Morón S, et al., J Virol Methods. 135: 281-87. 2006. 3. Ibáñez C, et al., Acta Chiropterol.; 8: 277-297. 2006. 4. Schatz J, et al., Zoonoses Public Health. In press. 5. Vázquez-Morón S, et al., Emerg Infect Dis.; 17(3): 520-23. 2011. 6. Hooper, S. R y Van Der Bussche. Acta Chiropterol.. 5, supplement:1-63. 2003.

CO.05**HUMAN RABIES IN THE UNITED STATES: EVALUATION OF CLINICAL FINDINGS FROM 1960-2010**

Bass JM¹, Petersen BW¹, Mehal JM², Blanton JD¹, Rupprecht C¹ – ¹CDC – Poxvirus and Rabies Branch, ²CDC – Division of High-Consequence Pathogens and Pathology

Background: Clinical diagnosis of human rabies is challenging in the United States (U.S.) due to the rarity of human cases, non-specific symptoms, and infrequent attainment of a potential exposure history. The traditional presentations of rabies, furious and paralytic, are reported in regions of endemic canine rabies, but have not been systematically characterized among rabies cases in the U.S. This study aims to examine the clinical characteristics of patients in the U.S. that are associated with rabies to aid in diagnosis and surveillance. **Methods:** Patient data were extracted from an existing database associated with samples submitted for rabies diagnosis to the Poxvirus and Rabies Branch at the CDC. A de-identified dataset consisting of records for all patients diagnosed with rabies from 1960-2010 and patients ruled-out for rabies from 2007-2010 was provided. Patients with at least one symptom reported were included in analysis. Chi-square was used for tests of association. **Results:** Of the 252 patients in the dataset, clinical symptoms were reported for 246; 103 (41.9%) of 246 were diagnosed with rabies. Symptoms significantly associated with rabies ($p < 0.01$) were localized pain or paresthesia (OR 10.4, 95% CI 5.6-19.1), hydrophobia (OR 9.9, 95% CI 4.3-22.2), dysphagia (OR 3.1, 95% CI 1.8-5.2), localized weakness (OR 2.9, 95% CI 1.7-5.1), and aerophobia (OR 15.3, 95% CI 1.9-121.3). The presence of agitation or a focal neurologic sign (dysphagia or localized pain, paresthesia, or weakness) had a combined specificity of 95% and a likelihood ratio of 1.8 for rabies. Symptoms significantly associated with patients for whom rabies was ruled-out by laboratory diagnosis included: confusion (OR 2.9, 95% CI 1.5-5.4), malaise (OR 3.3, 95% CI 1.9-5.6), seizure (OR 3.1, 95% CI 1.8-5.4) and headache (OR 4.1, 95% CI 2.4-8.8). **Conclusion:** Focal neurologic signs, hydrophobia, and aerophobia should be emphasized in the evaluation of patients for rabies and the submission of samples for laboratory diagnosis. These clinical associations may also be applied to a formal case definition to improve reporting of human rabies where laboratory diagnosis is limited. Ongoing analysis of clinical data from patients tested for rabies may be utilized to develop algorithms of signs and symptoms predictive of rabies diagnosis. **Topic:** Human Rabies or Epidemiology and Surveillance of Rabies **Honors and Financial Assistance:** Jennifer Bass performed this work as a fellow in the CDC Experience Applied Epidemiology Fellowship. Brett Petersen initiated this project as an officer in CDC's Epidemic Intelligence Service.

CO.06**CLINICAL FEATURES OF DOG- AND BAT-ACQUIRED RABIES IN HUMANS**

Udow SJ¹, Marrie RA¹, Jackson AC¹ – ¹University of Manitoba – Internal Med. (Neurology)

Clinical differences in rabies due to canine and bat rabies virus variants have been noted, but no detailed studies have been reported to support these observations. Using PubMed and the MMWR we identified 120 case reports of rabies from the USA, Canada, Europe, and Asia. We systematically abstracted selected clinical features, results of investigations, incubation times and durations of illness. Details about clinical features were recorded. Cases were classified as dog- or bat-acquired based on reported animal exposure or viral

variant typing by molecular or monoclonal antibody characterization. Categorical variables were summarized as frequency (%), and continuous variables were summarized as median (interquartile range [IQR]). We compared bat- and dog-acquired cases using chi-square or Fisher's exact tests for categorical variables, and Mann Whitney U tests for continuous variables. Of 120 cases, 38 (32%) were dog-acquired and 54 (45%) were bat-acquired. Survivors and cases acquired from aerosolized viral exposure or tissue/organ transplantation were excluded. The median incubation times for dog- and bat-acquired rabies were 63 (IQR 42.75, 108) and 52.5 (IQR 27.25, 92.5) days, respectively ($p=0.074$). The median durations of illness for dog- and bat-acquired rabies were 17 (IQR 11.75, 23) and 14 (9.25, 18.5) days, respectively ($p=0.201$). There was no difference in patients with bat- and dog-acquired rabies in terms of the presence of fever, prodromal malaise, encephalopathy, sore throat, cranial nerve abnormalities, hemiparesis or seizures. Clinical manifestations that were more common in bat- than dog-acquired rabies included a local prodrome of sensory or motor symptoms ($p=0.026$), hemisensory abnormalities ($p=0.042$), tremor ($p=0.003$), and myoclonus ($p=0.009$). Neither tremor nor myoclonus was observed in patients with dog-acquired rabies. Aerophobia and facial or pharyngeal spasms were more common in dog- than bat-acquired rabies ($p=0.007$ and $p=0.029$, respectively). Hydrophobia was more common in dog-acquired rabies ($p=0.054$). There was no difference between dog- and bat-acquired rabies in terms of results of diagnostic investigations such as skin biopsy, salivary analysis or the detection of antibodies in serum and cerebrospinal fluid (CSF). The CSF protein was higher for bat rabies (79; IQR 52, 109 mg/dL) than dog rabies (31; IQR 26, 48, mg/dL; $p=0.012$). In summary, bat-acquired rabies is associated with more local symptoms, tremor, and myoclonus, whereas dog-acquired rabies has more hydrophobia, aerophobia, and pharyngeal or facial spasms. We speculate that these clinical differences may reflect differences in the route of viral entry of the rabies virus variants into the nervous system because fundamental differences in the neuropathology or viral distribution have not been identified. Bat rabies virus variants may also have greater effects on the blood-CSF barrier by affecting endothelial cell permeability through unknown mechanisms.

CO.07 IMMUNE RESPONSES IN HUMAN CNS DURING RABIES VIRUS INDUCED ENCEPHALITIS

Franka R¹, Batten B², Shieh WJ², Niezgodna M¹, Zaki S², Rupprecht C¹ – ¹Centers for Disease Control and Prevention – Poxvirus and Rabies Branch (PRB), ²Centers for Disease Control and Prevention – Infectious Diseases Pathology Branch (IDPB)

Understanding the mechanisms of rabies virus clearance from the CNS will be a significant step towards the treatment of clinical rabies. Although a few animal studies have provided insight about immune responses in the CNS during rabies encephalitis, data about the same are very scarce for humans. In our study, formalin-fixed, paraffinembedded, central nervous system (CNS) tissues from patients who succumbed to rabies following infection with RABV variants common to the tricolored bat (*Perimyotis subflavus*) in the United States, canine RABV present in Haiti, and canine RABV from Afghanistan, as well as tissues from a patient who recovered from clinical laboratory confirmed rabies following cat bite in Colombia, but succumbed as a result of secondary medical intervention, were subjected to comparative immunohistological evaluations identifying particular immune cell populations associated with rabies encephalitis. A non-encephalitic brain from an influenza patient was used as a negative control. Populations of B-cells (CD20), T-cells (CD3),

and macrophages (CD68), as well as the presence of rabies virus antigens were compared using a semi-quantitative scale. In addition, gene expression analyses, using the Human Antiviral Response RT² Profiler™ PCR Array, focusing on the expression of 84 key genes involved in the innate antiviral immune response, were performed. No rabies virus antigens were detected in the brain tissue of the patient who survived clinical rabies or in the control brain. T-cells and macrophages were abundant in the parenchyma in all rabies patients, but B-cells were detected only in the perivascular tissue of the putative rabies survivor, and rabies patients infected with canine RABVs. Few T- and B- cells, and only local microglia cells, were detected in the influenza patient. Differences in the expression of multiple genes associated with innate immunity, as well as inflammatory responses, were identified, suggesting the importance of their role in rabies encephalitis and viral clearance from CNS tissue.

CO.08 FIRST MYOTIS LUCIFUGUS RABIES VIRUS VARIANT DETECTED IN A HUMAN

Orciari L¹, Brown C², Lijewski V², Franka R¹, Jackson FR¹, Niezgodna M¹, Tack D¹, Yager PA¹, Hightower D¹, Rupprecht C¹ – ¹Centers for Disease Control and Prevention – Rabies Program, ²Massachusetts Department of Public Health

A 63 year old male from Barnstable County, MA was evaluated at Massachusetts tertiary care facility for possible stroke and encephalitis. Although the patient's first symptoms were joint stiffness, within 2 days the patient was exhibiting signs of hydrophobia, and acute progressive encephalitis. Serum, CSF, nuchal (skin) biopsy, and saliva samples from the patient were sent to CDC for rabies diagnostic testing. No rabies virus IgG or IgM antibodies were detected in serum and CSF by the indirect fluorescent antibody (IFA) test, and no viral neutralizing antibodies were detected in the serum or CSF samples by the rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT). Rabies virus antigen was detected in nuchal biopsy samples using direct fluorescent antibody (DFA) test. Nested (and heminested) RT-PCR amplicons were produced from skin and saliva using multiple rabies virus nucleoprotein gene primers sets. Sequence analysis of the entire nucleoprotein gene and comparisons with samples in the CDC database and Genbank indicated that the rabies virus variant was associated with *Myotis sp* bats. Further analysis of phylogenetic trees (1000) by Neighbor Joining, Maximum Parsimony and Maximum Likelihood indicated the variant was most parsimonious with the common "little brown bat" *Myotis lucifugus*. Postmortem brain tissues were positive for rabies virus antigen by the direct fluorescent antibody test. Antigenic typing with monoclonal antibodies to the rabies virus nucleoprotein was consistent with the previous results of a bat rabies variant, but lacked the resolution of genetic typing methods. Sequence analysis of the RT-PCR amplicons from the complete nucleoprotein gene were consistent with the previous findings of the variant seen in *M. lucifugus*. Although *M. lucifugus* is common in the US and frequently has had known encounters with humans and animals, this is the first documented case of this rabies virus variant in a human. In contrast to this unique finding, the rabies virus variant associated with a solitary bat with rare known human or animal encounters *Lasiurus noctivagus* (silver-haired bat) has been responsible for most human rabies cases in the USA over the last 2 decades.

CO.09**ENCEPHALITIS OF UNKNOWN ETIOLOGY AND HUMAN RABIES IN THE UNITED STATES, 1999-2008**

Vora NM^{1,2}, Blanton JD¹, Holman R¹, Mehal J¹, Petersen BW¹, Recuenco S¹, Tack D¹, Rupprecht C¹ – ¹CDC, ²Epidemic Intelligence Service

Encephalitis is a severe neurologic syndrome caused by a variety of infectious and noninfectious pathologies. In many instances a definitive etiology of encephalitis is not identified, but a study of encephalitis in California found that 0.3% of cases referred for further evaluation to a specialized diagnostic facility (Glaser, Gilliam et al. 2003) was due to rabies. Under recognition of human rabies in the United States by healthcare providers may account for missed diagnoses of rabies. The purpose of this investigation was to estimate the number of encephalitis-related deaths in the United States and the proportion due to rabies specifically. We reviewed human mortality data in the United States between 1999-2008 and identified encephalitis-associated deaths using ICD-10 codes. Codes were categorized based on if an etiology of encephalitis was listed or not. We also reviewed all laboratory-confirmed human rabies cases within the United States and its territories that were reported to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) during this same time period. A total of 12,457 cases of encephalitis-associated deaths were identified, of which 8726 (70%) were of unknown etiology. Twenty (0.2%) cases were coded as rabies. During this same time period, 27 confirmed cases of rabies were reported to CDC. Of these 27 cases, 6 of the exposures occurred in countries other than the USA. Dogs were the most commonly reported exposure among imported cases. Of the 21 indigenous cases, 14 were attributable to bats, 4 to tissue/organ transplantation, 1 to a dog exposure in Puerto Rico and 2 from unknown sources. Our findings suggest that the majority of encephalitis-associated deaths in the United States were of unknown etiology. Among the confirmed cases of rabies, the majority who acquired rabies within the United States acquired the infection from wildlife. Nearly 10% of the indigenous cases occurred through an unknown exposure. Healthcare providers should consider evaluating for rabies when a patient develops acute progressive encephalitis of unknown etiology despite routine evaluation or if clinical history is suggestive. Glaser, C. A., S. Gilliam, et al. (2003). "In search of encephalitis etiologies: diagnostic challenges in the California Encephalitis Project, 1998-2000." *Clin Infect Dis* **36**(6): 731-742.

CO.10**HUMAN RABIES IN RIO CASCA MUNICIPALITY, 2012: CASE REPORT, SIX YEARS AFTER THE LAST RECORD IN MINAS GERAIS, BRAZIL**

Santana LF¹, Tourinho BD², Dias GMF², Pinto JEG², Amâncio FF², Brito MG², Cunha MMSF², Bento LJ², Rodrigues DR², Trindade ML², Ferraz ML² – ¹Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais, ²Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais

Rabies is a viral disease that affects the central nervous system (CNS) of mammals and it's fatal in almost 100% of cases. In 2012, six years after the last record of a human case in Minas Gerais, the transmission has been confirmed through aggression by vampire bat. The objective of this report is to describe the clinical and epidemiological characteristics of this case. On 06/19/2012, the Health Department of Minas Gerais State has been notified by the Regional Health Department of Ponte Nova of a suspected case of human rabies from Rio Casca municipality. He was a 32-year-old male patient, farmer, residing in the rural area. The patient suffered bitten by a bat in his right hand

after trying to remove it from the back of a calf in the month of May. At that time the patient did not seek medical care and the event was not notified to health service or the agriculture department. The calf died about 10 days after the incident and no material was sent for laboratory examination. Since 06/11/2012, the patient successively sought care because of a barbed wire cutting on the same hand attacked by the bat, which began to show dormancy. Then he developed lip deviation, fever and vomiting, and clinical progression toward paresthesia, insomnia, agitation, confusion, sore throat and drooling. Tetanus, muscle twisting and tonsillitis were diagnostic hypotheses raised by the municipal health services. The aggression was reported only after assistance at Ponte Nova municipality, and suspected human rabies was notified. On the same day, the patient was transferred to the referral hospital in Belo Horizonte municipality for specialized care. Patient sedation was maintained, with antiviral administration and control of symptomatic complications. The patient developed hypernatremia, ventilator-associated pneumonia and cardiac arrests. There was *antemortem* laboratory confirmation of rabies infection by Polymerase Chain Reaction (PCR) in cerebrospinal fluid and saliva sample, and genetic sequencing indicated that it was compatible with *Desmodus rotundus* genetic variant. Despite specific treatment, the patient died on 06/28/2012 due to refractory circulatory shock. *Postmortem* examination was performed by direct immunofluorescence reaction, with infection confirmation at CNS fragments. During the conduct of the case, epidemiological investigation was proceeded by medical reports and records reviewing, family interviews and active search of exposed. In association, health education, social mobilization and intersectoral work actions were developed. Through the described information it is evident the importance of health systems being able to properly suspect, notify, and investigate, added to need to maintain surveillance and control activities of rabies in Minas Gerais state.

CO.11**MEASURES OF RABIES IMMUNITY IN RELATION TO SUSCEPTIBILITY, DIAGNOSIS AND PREVENTION**

Hanlon CA¹ – ¹Director, Kansas State University Rabies Laboratory, Manhattan, Kansas USA

A number of reports describe limited numbers of animals inoculated intentionally with rabies virus that do not become ill and may have little to no detectable antibody while other conspecific individuals succumb to the same inoculum. This review will detail methods used in measuring immunity and optimal method validation, in relation to potential identification of baseline susceptibility, enhanced disease diagnosis, and optimal prevention practices for humans and animals. Potential factors for successful rabies virus infection include: 1) protection of infected neurons from host immunemediated destruction by the inhibition of virus-mediated apoptosis and overexpression of immune-subversive molecules resulting in killing or inactivation of 'protective' T cells migrating into the infected nervous system; 2) an hypothesis that lethality results from neuronal dysfunction inhibiting proteins required for neuronal maintenance; 3) a posit that virus phosphoprotein and host cell dynein light chain 8 interaction may regulate viral ribonucleoprotein linking to cell transport; 4) a thesis that innate immunity, paradoxically, favors rabies virus neuro-invasiveness through enhanced infiltration and promotion of CD8(+) T cell elimination; and then alternatively that ; 5) type I IFN produced in the rabies virus-infected nervous system reduces neuroinvasiveness and partially protects from fatal infection. It is clear that innate immune cells detect pathogens, most likely including rabies virus, via pattern recognition receptors, such as Toll-like receptors and others. Pathogen-associated molecular

patterns activate receptors which induce production of pro-inflammatory cytokines and signals to activate inflammation. In addition, these receptors are required for an adaptive immune response. Innate and adaptive immune responses act as two interlocking defense lines. Following a rabies exposure, virus may be initially suppressed by innate immunity accompanied by effector T cell recruitment for activation of adaptive immunity. Alternatively, the uniquely high mortality rate of successful rabies virus infection may be due to virus-host interactions that remain largely a mystery. The accurate and precise measurement of an adaptive immune response may be defined by experimental methods or well-described methods, such as the rapid fluorescent focus antibody test, as performed and fully validated in some laboratories. The interpretation of findings based on these various methods should be in relation to clinical observations and collaborative investigation of unique, isolated, novel findings. The fine-tuning, interaction, and timing of innate and adaptive host responses and the methods used for detection and measurement, will require dedicated investigation towards optimal disease prevention.

CO.12 DIFFERENCE IN INTRACELLULAR LOCALIZATION AND EXPRESSION LEVEL OF RECOMBINANT RABIES G-PROTEINS OF STREET VIRUS (KYOTO STRAIN) AND FIXED VIRUS (CVS-26 STRAIN) EXPRESSED IN HEK293T CELLS

Hamamoto N¹, Kaku Y¹, Noguchi A¹, Morikawa S¹, INOUE S¹ – ¹National Institute of Infectious Diseases – Veterinary Science

Virulence of rabies virus (RABV) has been mainly studied with fixed viruses (laboratory strains) having different degrees of pathogenicity, however, virulence is much different between fixed viruses and street viruses (wild strains). Highly attenuated fixed strains of RABV does not cause lethal infection with profound inflammation accompanied with apoptosis and neural degeneration in the central nervous system (CNS). Induction of innate immune responses in CNS is a hallmark of infection with highly attenuated strains, whereas neural damage is absent or minimal and innate immune responses are not induced in animals infected with street virus. In the street virus infected cells, intracytoplasmic virion maturation taken place in the ER/Golgi apparatus is commonly observed and budding of virus from cellular plasma membrane is less frequent than in the fixed virus infected cells. Since RABV G-protein is critical for induction of virus neutralizing antibody, profound expression and budding of virions on cellular surface in fixed virus infected cells might be a major target of the host immune system. Thus different pathogenicity between street virus and fixed virus might be associated with different localization of virion maturation. However, little is known about molecular mechanism of virion maturation both of fixed and street viruses. To elucidate this, we have expressed G-proteins of CVS-26 strain (fixed virus) and Kyoto strain (street virus) in HEL293T cells upon transfection of the pCAGGS (CXN2) plasmid bearing G-genes of CVS-26 and Kyoto strains, respectively. Intracellular expression and localization of G-protein of each strain was then examined by fluorescence antibody technique and Western blot analysis using anti-G mAb (No.#7-1-9, kindly provided from Dr.Kawai). Confocal laser scanning microscopy showed CVS-26 G-protein was mainly localized on plasma membrane, while Kyoto G-protein was predominantly localized at perinuclear membrane region. CVS-26 G-protein was shown to be expressed in abundance than Kyoto G-protein in HEK293T cells by Western blot analysis. These results indicate maturation site of infectious RABV solely determined by localization of G-protein. Four amino acids in a signal peptide (SP) of G-protein of CVS-26

were distinct from those of Kyoto. The number of putative N-linked glycosylation sites was 3 and 2 on G-proteins of CVS-26 and Kyoto, respectively. Further analysis is required to elucidate whether these differences affect intracellular localization and expression level of RABV G-protein.

CO.13 ROLE OF MITOCHONDRIA IN RABIES VIRUS-INDUCED OXIDATIVE STRESS

Alandijany T¹, Kammouni W², Roy Chowdhury SK³, Fernyhough P⁴, Jackson AC² – ¹University of Manitoba – Medical Microbiology, ²University of Manitoba – Internal Med. (Neurology), ³St. Boniface Hospital Research Centre – Neurodegenerative Disorders, ⁴University of Manitoba – Pharmacology and Therapeutics

Neuronal process degeneration occurs in an experimental mouse model of rabies with hindlimb footpad inoculation of the challenge virus standard-11 (CVS) strain. CVS infection of primary mouse and rat dorsal root ganglion (DRG) neurons has associated axonal degeneration with axonal swellings and neurite outgrowth reduction. The CVS-induced axonal swellings feature protein adducts of 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), a marker for lipid peroxidation, indicating a critical role of oxidative stress. Western immunoblotting analysis indicated that adducts of 4-HNE expression is also increased in the CVS-infected rat adrenal medulla (PC12) cell line. Mitochondrial dysfunction is one of the most important causes for overproduction and accumulation of reactive oxygen species (ROS). We investigated the effects of CVS infection on several mitochondrial parameters in different cell types (DRG primary neurons, PC12, mouse neuroblastoma (MNA), and baby hamster kidney (BHK-S13) cells) at 72 hrs post infection. The biochemical activity of electron transport system (ETS) complexes (I, III, and IV) and Krebs cycle enzymes (citrate synthase and malate dehydrogenase) were evaluated using a spectrophotometric approach. Krebs cycle enzyme activities were not affected in CVS- versus mock-infected cells. Complex I activity was significantly increased in all CVS-infected cells versus mock-infected controls. Complex I was increased by 30-35% in CVS-infected DRG and PC12 cells, whereas it was increased by 65-75% in MNA and BHK-S13 cells. These values were proportional to the susceptibility of the cells to CVS infection suggesting a direct effect of the CVS infection on Complex I. Complex II-III activity was normal in the infected cells. Complex IV activity was upregulated in all types of CVS-infected cells. However, the increase did not relate to the susceptibility of the cells to the infection, suggesting an indirect effect. We postulate that enhanced Complex IV activity in CVS-infected cells may play a role in avoiding apoptosis. NADH, which is a Complex I-substrate, level was significantly higher in CVS-infected versus mock-infected PC12 cells. NAD⁺ level in CVS-infected PC12 cells was similar to that in mock-infected controls. Despite the increased activity of ETS complexes, CVS infection reduced the intracellular level of ATP in PC12 cells. The reduced ATP level in CVS-infected DRG neurons may explain, at least in part, the reduction in the neurite outgrowth that was previously observed. We predict that a high mitochondrial inner membrane potential is generated in CVS infection because of increased proton pumping across the mitochondrial inner membrane due to higher activity of Complex I and IV, and decreased proton consumption as indicated by reduced intracellular ATP level. Induction of a high mitochondrial membrane potential promotes electron leakage, primarily at the Complex I site, leading to ROS overgeneration and oxidative stress.

CO.14**PARADOXICAL ROLE OF IFN IN RABV INFECTION**Lafon M¹ – ¹Institut Pasteur Paris France

A series of experiments clearly indicate that RABV infection is sensitive to type 1 IFN signaling and that P and N protein-mediated IFN evasion is efficient to promote virus replication. Nevertheless, in the course of infection, the IFN induction in the whole RABV-infected nervous system, NS, is far from being abrogated. Indeed, after injection of RABV (Challenge Virus Standard, CVS strain) into the hindlimbs of mice, a progressive infection within the spinal cord and the brain is accompanied by a robust innate immune response characterized by a type 1 IFN response. It may not be surprising that IFN can be produced in the NS during infection because the mechanisms evolved by RABV to escape the IFN response are restricted to infected neurons, the only cell type expressing the P and N proteins. These mechanisms cannot operate in glial cells because they do not express any viral proteins, glial cells being rarely infected *in vivo*. Nevertheless, glial cells are innate-immuno-competent cells and they do not need to be infected to mount an innate immune response suggesting that non infected glial cells may be the source of heterocellular IFN in the RABV-infected NS. One can wonder what the function of the heterocellular IFN in RABV infection is. Beside intrinsic antiviral properties, IFN also controls the expression of a large number of IFN stimulated genes (ISG). The ligand of the Programmed death protein-1, (PDL-1) (also named B7-H1), is an ISG which expression is upregulated in RABV-infected NS and which has been demonstrated to be a critical factor for RABV neuroinvasiveness. Thus, it can be proposed that RABV evades the antiviral effect of IFN in the infected neurons, whereas RABV benefits from the heterocellular IFN to facilitate its progression in the NS.

CO.15**ANALYSIS OF RNA EXPRESSION BY BLOOD MONONUCLEAR CELLS STIMULATED BY HUMAN RABIES CSF**Willoughby RE¹, Jia S¹, Hessner M¹ – ¹Medical College of Wisconsin – Pediatrics

In the absence of effective antivirals, survival from rabies has been correlated with the appearance of neutralizing antibody within 7 days of hospitalization. This adaptive humoral response follows the earlier innate immune response to rabies, which can be subverted by the rabies virus phosphoprotein. Understanding the cerebrospinal fluid (CSF) environment affecting innate and adaptive immunity to rabies virus is key to improving rabies survival. To sensitively detect the presence of cytokines, chemokines and other important immune modulators (small nucleotides and lipids) in CSF, we employed a novel bioassay whereby a well-controlled peripheral blood mononuclear cell (PBMC) population of a healthy blood donor is used as a sensitive biosensor that transcriptionally responds to these dilute disease-associated factors. The readout is a comprehensive genome-scale array. We examined 7 control CSF and 13 CSF samples from 6 patients with laboratory-confirmed rabies, dating from hospital days 4 to 26. Dog and bat rabies were equally represented. CSF was incubated with reporter (PBMC) for 9 hours, total RNA from PBMC was then extracted, labeled and analyzed using Affymetrix Human Genome U133Plus2.0 array. Unsupervised analysis separated rabies CSF from controls but did not clearly group rabies samples by patient, suggesting that rabies disease itself and associated medical treatments are greater determinants of the innate immune response to rabies measured in CSF than are intrinsic host variables. In general, interferon-induced genes were up-regulated while cytokine genes were downregulated in human PBMC responding to human rabies.

CO.16**MICROARRAY ANALYSIS OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM ASSOCIATED WITH THE INFILTRATION OF MICROGLIA IN MICE SHOWING SIGNS OF PARALYSIS AFTER THE INTRAMUSCULAR INOCULATION OF RV (CVS-11 STRAIN)**INOUE S¹, Uda A¹, Sugiura N¹, Hamamoto N¹, Park CH² – ¹National Institute of Infectious Diseases – Veterinary Science, ²Kitasato University – Veterinary Pathology

Rabies occurs in worldwide and more than 70 000 people die of rabies every year. As the disease progresses of patients, more specific neurological symptoms were presented including such as insomnia, anxiety, confusion, slight or partial paralysis, excitation, hallucinations, agitation, difficulty swallowing, and hydrophobia (fear of water). Patients show severe paralysis gradually and eventually dead after a coma. Mice inoculated intramuscularly (i.m.) with CVS-11 (fix strain) showed the severe hind limb paralysis on 7 days and then dead eventually, however mice inoculated with CVS-11 intracerebrally (i.c.) were dead without limb paralysis (Kojima et al. 2009 and Sugiura et al. 2011). For understanding of hind limb paralysis, mice inoculated with CVS-11, i.m. and i.c. was comparatively analysed by microarray and histopathology. Brains and spinal cords of mice were separately collected after 7 days of the postinoculation of i.m. and i.c.. Viral antigens was similarly observed in both of brains and spinal cords in mice inoculated i.m. and i.c.. Pathologically, microglia was infiltrated in spinal cords in mice inoculated i.m. not but i.c.. In microarray, expression level of genes was normalized with each mock. After comparative analysis of gene expression in mice inoculated i.m. and i.c., significantly (fold change >2, /p/<0.05) changed genes were examined by Ingenuity Pathway Analysis (IPA). As the results, calcium ion related gene and immune response genes including inflammations, chemotaxis, inflammation and apoptosis were obviously up-regulated in i.m. in both of brains and spinal cords. Additionally, the /p/ values of these in spinal cords were obviously lower than those of brains. Moreover, there is significant changes of Stat4, Irf7 and Il12 which is the central regulation factors of those responses. The evoked strong immune responses associated with the infiltration of microglia in CNS of mice infected i.m. suggest a reason of damage developed severe paralysis in mice inoculated with CVS-11, i.m.. This work was supported by a grant-in-aid for the Health and Labour Science Research Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

CO.17**PROTEOMICS ANALYSIS OF HUMAN RABIES CSF**Willoughby RE¹, Halligan B², Green A² – ¹Medical College of Wisconsin – Pediatrics, ²Medical College of Wisconsin – Biotechnology and Bioengineering Center

The pathogenesis of human rabies is incompletely understood. Wildtype rabies infection is minimally cytolytic or inflammatory, and does not include major disruption to the blood brain barrier. Cerebrospinal fluid (CSF) from human rabies patients is therefore ideally suited for direct analysis by proteomics approaches that may substantively elucidate the immune responses, alterations in metabolism and fundamental cellular mechanism that contribute to rabies pathogenesis and recovery. We examined 20 control CSF and 13 CSF samples from 6 patients with laboratory-confirmed rabies, dating from hospital days 4 to 59. Dog and bat rabies were equally represented. Trypsin digests of CSF proteins were analyzed by liquid reversed-phase chromatography followed by mass spectrometry using a Thermo LTQ-Orbitrap. Peptide identifications

were filtered at a False Discovery Rate (FDR) of < 5% and proteins were required to have two or more peptide forms observed to be considered. No rabies virus derived peptides were detected in any sample. In aggregate, the abundance of 180 proteins were statistically significant between patients and controls ($p < 0.05$) when corrected for multiple testing and 36 proteins were more than 2 fold increased in patients and 64 proteins were detected only in patients only. Some of the groups that these proteins were involved in innate and acquired immunity, complement, proteases, structural proteins, synaptic granules, energy metabolism, innate immunity and natriuresis.

CO.18 TH17 CELLS: COULD THEY BE THE LAST ATTEMPT OF THE HOST TO CLEAR THE RABIES VIRUS?

Fernandes ER¹, Guedes F¹, Martins JF², Pagliari C³, Duarte MIS³ – ¹Instituto Pasteur de São Paulo, ²Instituto de Infectologia Emílio Ribas – Departamento de Patologia, ³Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Departamento de Patologia

Introduction: following an antigenic stimulus *naive* CD4+ T lymphocytes become activated, expand and differentiate into T helper subtypes Th1 or Th2 lymphocytes. Recently, a new subtype named Th17 has been proposed. Similar to the other subtypes of immune response, Th17 cells require specific cytokines and transcription factors for their differentiation. TGF- β along with IL-6 are crucial cytokines in this process, while the IL-21 has a role in the amplification of the Th17 response and IL-23 is responsible for the maintenance of differentiated Th17 cells. Although the role of Th17 cells is not yet fully understood, data from the literature suggest that these cells have important role in host defense against microorganisms, in particular when the Th1 and Th2 type immunity is not efficient to clear the pathogen. **Aim:** to evaluate and quantify the cells expressing IL-6, IL-17 and TGF- β in specimens of central nervous system in human rabies cases transmitted by dogs. **Material and methods:** six fragments of central nervous system (cortex, hippocampus, basal ganglia, cerebellum, medulla oblongata and spinal cord) were selected from each specimen of the four human rabies cases transmitted by dogs. By immunohistochemical reaction with the use of Streptavidin-biotin-peroxidase method it was examined the expression of cytokines IL-6, IL-17 and TGF- β . All immunostained cells were quantified using a grid-scale in an area of 0.0625 mm² considering 40 fields in each fragment of the CNS (10 fields in meninge and 30 fields in parenchyma). Results were expressed in number of cells per mm². **Results:** it was observed high expression of TGF- β (586.68 cells/mm²), followed by IL-6 (228.79 cells/mm²) mainly in the parenchymal region and the presence of cells expressing IL-17 primarily in meningeal (187.21 cells/mm²). **Discussion and conclusion:** considering that the cytokine microenvironment will direct the type of immune response against infection, if there is a predominance of cytokines such as IL-1 and IL-6, there is a proinflammatory profile, if there is an increased expression of TGF- β and IL-10, we can suggest an immunoregulatory profile; however, the combination of cytokines can generate other profiles of the immune response in an attempt to combat the infectious agent. The concomitant presence of cells expressing TGF- β , IL-6 and IL-17 suggest a Th17 pattern of immune response, which would be an attempt by the host to clear the rabies virus after the profiles of Th1 and Th2 immune response have failed viral elimination.

CO.19 ANIMAL MODELS AND BIOLOGICS EVALUATION: EXPERIMENTAL RABIES VIRUS INFECTION AND DOSE TITRATION OF CL184 MONOCLONAL ANTIBODY COMBINATION IN THE SYRIAN HAMSTER

Taylor ST¹, Ellison JA¹, Franka R¹, Marissen WE², Rupprecht C¹ – ¹Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA – Division of High-Consequence Pathogens & Pathology, ²CruceLL Holland BV, Leiden, The Netherlands

Rabies is an acute progressive encephalitis responsible for over 55,000 human fatalities each year. This zoonosis is preventable, if prompt medical intervention includes wound care and both active and passive immunization. Approximately 10 million people receive rabies post-exposure prophylaxis (PEP) annually. The World Health Organization recommends the administration of human and/or equine derived antirabies immune globulin (HRIG and ERIG) as well as cell culture vaccine for modern PEP in humans. However, in many developing regions where canine rabies is enzootic, alternative solutions for passive immunization are necessary due to the cost prohibitive, limited supply of HRIG and ERIG. Such disparities have prompted the development of anti-RABV monoclonal antibody (mAb) cocktails that can be produced on an industrial scale with consistent potency and decreased production costs in comparison to HRIG and ERIG. To assess the efficacy of a mAb combination in rabies PEP, we evaluated the use of CL184, a 1:1 protein mixture ratio of two human anti-RABV mAbs (CR57/CR4098) produced on the PER.C6[®] human cell line, in the Syrian hamster model. In separate experiments, female hamsters were divided into groups and inoculated on Day -1 into the gastrocnemius muscle with a lethal dose of a genetically distinct carnivore or bat RABV isolate (Asian dog or *Parastrellus hesperus*, respectively). On Day 0, HRIG at 20 IU/kg (n=21) or CL184 at 6 μ g/kg, 12 μ g/kg or 16 μ g/kg (n=21/group) was administered to groups at the site of inoculation. In each experiment, a control group (n=12) and a vaccine only group (n=21) received a placebo inoculation. On Days 0, 3, 7, 14, and 28, hamsters in experimental groups received a 50 μ l dose of commercially available RABV vaccine. High mortality was observed in both placebo and vaccine only groups by Day 40. Preliminary data from the Syrian hamster experiments demonstrate these animals are a suitable model and suggest that CL184 may be a non-inferior alternative for HRIG in rabies PEP scenarios.

CO.20 ANALYSIS OF RABIES VIRUS GLYCOPROTEIN SEQUENCES IN RELATION TO THE PROPOSED USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR POST-EXPOSURE PROPHYLAXIS

Kuzmina N¹, Ellison J¹, Orciari L¹, Marissen W², Kuzmin I¹, Rupprecht C¹ – ¹CDC, ²CruceLL Holland

The demand for rabies immune globulin (RIG) for post-exposure prophylaxis (PEP) is significant. Unfortunately, the cost of RIG is prohibitive for many patients in developing countries. Several monoclonal antibodies (MAbs) which neutralize rabies virus (RABV) have been proposed as a replacement for conventional RIG due to the ability of their large-scale production at a reduced cost. In the present study, we generated 487 RABV glycoprotein (G) sequences from a variety of viral lineages, and supplemented the dataset with 154 complete and 115 partial G sequences available in GenBank. The objective was to evaluate variability of known MAb-binding epitopes on the G, which may preclude virus neutralization. The analysis demonstrated that binding site of MAb CR57 (amino acids 226-231 of the G ectodomain) is very conservative.

The substitutions detected (such as K226R in several raccoon and African dog RABV isolates; L231P/S in several skunk, raccoon, and various bat RABV lineages; etc.) did not preclude virus neutralization from previously published studies. No substitutions that abolished binding of MAb CR57 in escape mutant studies were detected in naturally occurring field RABV isolates. In contrast, numerous substitutions were detected in the binding site of MAb CR4098 (AA 330-338 of the G ectodomain). Examples include a K330N substitution in a bat isolate from Brazil; V332I/F substitutions in several RABV lineages, associated with big brown bats; N336D in several viruses associated with big brown bats in North America, in South-African mongoose RABV, in one African and one Korean dog RABV isolate; N336G/S in several raccoon isolates; E337D in several canine RABV from Serbia and in the southcentral skunk RABV isolates; I338T in the canyon bat and Arctic RABV isolates. Substitutions in position 336, particularly the N336D, were detected earlier in escape virus studies and precluded neutralization of such viruses by MAb CR4098. Nevertheless, no isolates had substitutions in binding sites for MABs CR57 and CR4098 simultaneously. There is no reason to expect that any of the viruses from our study would escape neutralization by a combination of these MABs *in vivo*. The situation is different for HuMAB RAB1 (also referred to as 17C7). We confirmed numerous substitutions, particularly in position 336, which may abolish binding of MAb RAB1 as was shown previously by escape virus generation. The RAB1 was proposed as a single MAb for use in human rabies PEP, claiming that there are no natural RABV isolates which harbor critical substitutions in its binding site (the combination 336D-346K in the G ectodomain). We encountered this combination in the majority of viruses from one of the lineages associated with big brown bats distributed broadly in North America. Our findings clearly demonstrate that the proposed use of a single MAB for rabies PEP is inappropriate, in line with international recommendations.

CO.21 NEUTRALIZATION ANTIBODIES IN COMBINATION OF MCP-1 ARE AS EFFECTIVE AS LIVE-ATTENUATED RABIES VIRUS IN PREVENTING MICE FROM DEVELOPING RABIES

Fu Z¹, Huang J², Li G², Zhang G², Zhou M² – ¹University of Georgia – Huazhong Agricultural University, ²University of Georgia

Rabies virus (RABV) is a neurotropic virus that causes fatal disease in humans and animals. Currently there is no cure for rabies once clinical signs appear. It has been hypothesized that once the virus enters the central nervous system (CNS), neutralizing antibodies in the periphery cannot cross the blood-brain barrier (BBB) into the CNS. Previous studies have demonstrated that treatment with live-attenuated RABV via the intracerebral route 5 days after infection with wild-type viruses can lead to the clearance not only the attenuated, but also the wild-type virus. Direct administration of liveattenuated RABV stimulated high levels of neutralization antibodies and enhanced the BBB permeability. However, direct intracerebral administration of live-attenuated RABV possesses safety concerns. In the present study, neutralization antibodies were administered in conjunction with a chemokine, MCP-1 (known to enhance the BBB permeability), into mice after infection with wild-type virus. Significantly more protection was found in mice treated with this combination when compared to treatment with neutralization antibodies alone without MCP-1. Furthermore, the combined treatment with neutralization antibodies and MCP-1 is as effective as the live-attenuated RABV in preventing mice from developing rabies. These studies further demonstrate that enhancement of the BBB is critical for immune effectors in the periphery to enter into the CNS to clear RABV.

CO.22 DEVELOPMENT OF CL184 HUMAN MONOCLONAL ANTIBODY COMBINATION FOR RABIES POST-EXPOSURE PROPHYLAXIS, FROM PRECLINICAL DESIGN TO CLINICAL EVALUATION

Marissen WE¹, Niezgodá M², Ellison J², Franka R², Kuzmina N², Kuzmin I², Taylor T², Rupprecht C² – ¹Cruceíl Holland bv – Project Management, ²Centers for Disease Control and Prevention

The currently recommended prophylaxis for individuals exposed to rabies virus is the combined administration of rabies vaccine and rabies immune globulin (RIG). However, limited supply hampers the availability of RIG, particularly in enzootic areas. To circumvent the global RIG limitation we aimed to develop a human monoclonal antibody combination, CL184, for rabies post-exposure prophylaxis (PEP) that would replace the plasma origin RIG. CL184 consists of two human IgG1 mAbs, CR57 and CR4098, which are directed against non-overlapping rabies virus (RV) glycoprotein epitopes. Previously, we have shown that the *in vitro* breadth of neutralization of CL184 against a large panel of street RV of various animal origins as well as *in vivo* protection by CL184 in a Syrian hamster rabies challenge model was comparable to results obtained with human RIG. A detailed preclinical selection procedure was applied to establish the CL184 antibody combination. Efforts on RV surveillance to ensure adequate coverage by CL184 continue. In addition, encouraging data from the Phase I (US and India) and Phase II (US and Philippines) clinical evaluation of CL184 have been obtained. In preparation of the pivotal Phase III evaluations for CL184, a final Phase IIb evaluation has been executed for which data analysis is ongoing. The future availability of CL184 may help to ensure consistent supply of pivotal life-saving biologics to rabies endemic areas and could substantially contribute to the reduction of human rabies deaths, when combined with educational measures and efforts to eliminate canine rabies.

CO.23 GM-CSF OR FLAGELLIN IMPROVES THE EFFICACY OF RECOMBINANT RABIES VIRUSES FOR BOTH PARENTAL AND ORAL IMMUNIZATIONS

Fu Z¹, Zhou M², Zhang G², Ren G² – ¹Huazhong Agricultural University – University of Georgia, ²University of Georgia

Our previous studies indicated that recombinant rabies viruses expressing chemokines and cytokines (including GM-CSF) could enhance the immunogenicity by inducing innate immunity and recruiting/activating dendritic cells and B cells. In this study, bacterial flagellin was cloned into the rabies virus genome and recombinant virus rLBNSE-Flic was rescued. To compare the immunogenicity of rLBNSE-Flic with recombinant virus expressing GM-CSF (rLBNSE-GMCSF), mice were immunized with each of these recombinant rabies viruses by *i.m.* or the oral route. The parental virus (rLBNSE) without expression of any foreign molecules was included for comparison. The *i.m.*-immunized mice were bled at three weeks after the immunization for the measurement of virus neutralizing antibodies (VNA) and then challenged with 50 LD₅₀ CVS-24. The orally immunized mice were boosted after three weeks and then bled and challenged one week after the booster immunization. It was found that both the recombinant viruses LBNSE-GMCSF and LBNSE-Flic induced higher levels of VNA and protected more mice against rabies challenge than the parental rLBNSE in both the *i.m.*- and the orally immunized groups. Together, these studies suggest that recombinant rabies viruses expressing GM-CSF or flagellin are better vaccines than the parent virus for both parental and oral immunizations, most likely by recruiting/activating dendritic cells.

CO.24**PERSISTENCE OF ANTI-RABIES NEUTRALIZING ANTIBODIES IN A RURAL AMAZONIAN COMMUNITY VACCINATED WITH PURIFIED VERO CELL RABIES VACCINE (PVRV) FOLLOWING VAMPIRE BAT RABIES OUTBREAK**

Medeiros R¹, Maestri A², Le Guern A-S³, Martorelli L⁴, Almeida M⁴, Kataoka APAG⁴, Houillon G⁵, Jusot V⁵, Zocchetti C⁵, Bosch Castells V⁵, Rasuli A⁵, Chteoui M³, Jallet C³, Behillil S³, Assef R², Rodrigues L², Lima R⁶, Rotivel Y⁷, Tordo N⁸ – ¹Universidade Federal do Para, Brazil, ²Universidade Federal do Para, ³Institut Pasteur, Paris, ⁴Centro de Controle de Zoonoses, São Paulo, ⁵Sanofi Pasteur, Lyon, ⁶Secretaria de Saude do Para, ⁷Institut Pasteur, ⁸Institut Pasteur – Virology

Human rabies transmitted by vampire bats is a constant threat in the Amazonian region, regularly exceeding in fatalities the classical dog transmitted rabies in recent years. In 2004-5, several outbreaks have occurred in Para, Brazil. In May-June 2005, following 15 deaths, mostly children, in Augusto Correa, a rural community of 53,000 people dispersed along the Amazon estuary, 3,500 subjects aged from 2 to 60 years received purified Vero cell rabies vaccine (PVRV Verorab[®], Sanofi Pasteur, France) for post- or pre-exposure prophylaxis. The presentation will summarize the follow-up of this community during 4 years after vaccination. The persistence of anti-RABV neutralizing antibodies (VNABs) levels was evaluated by RFFIT, FAVN, and Platelia ELISA (Bio-RAD[®]) against the PV and CVS reference strains as well as a vampire bat isolate. Subjects with VNAB levels <0.5 IU(EU)/mL were boosted. From a total of 507 subjects included in the study, 428 (84.4%) were available all along the follow-up, an excellent adherence considering the isolation, dispersion, and nomadic live of the community. Remarkably, 5% to 7% of the surveyed population were potentially re-exposed one to several times each year through animal bites (mainly dogs also bats, cats, monkeys). The persistence of the WHO minimum “seroprotective” level of VNABs (≥0.5 IU/mL) four years after vaccination was observed in 85.8% of the non boosted population (346 patients). Interestingly, no statistical difference in VNAB persistence profiles were observed in pre-exposure (45 subjects) and post-exposure (301 subjects) treated populations. Globally, the VNAB level and persistence were better in young population than in elderly, and in females than in males, particularly the 16–40 years old males which showed lower GMT and seroprotection rates. No interference was observed between anti-malaria treatment and PVRV immunogenicity. At the methodological level, RFFIT and FAVN results appeared highly concordant. The concordance was lower with the ELISA results that showed a global increase in GMT value over the years paralleled by a decrease in statistical correlation with RFFIT (Pearson’s correlation coefficient = 0.82 in 2007 to 0.42 in 2009). A hundred serum samples were selected randomly each year to evaluate the concordance of RFFIT results using the PV strain versus a local vampire bat isolate. In summary, this study demonstrated persistence of anti-rabies VNABs in the vast majority of vaccinees (PVRV Verorab[®]) from this community at repeated risk of vampire bat bites.

CO.25**RABIES SURVEILLANCE IN THE UNITED STATES-EVALUATION OF RABIES VIRUS VARIANTS**

Dyer J¹, Blanton JD¹, Rupprecht C¹ – ¹Centers for Disease Control and Prevention – Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, Poxvirus and Rabies Branch, Rabies program

During 2011, 49 states and Puerto Rico reported 6,031 rabid animals representing a 1.9% decrease from the 6,153 rabid animals reported in 2010.

Relative contributions by the major animal groups were as follows: 1,981 raccoons (32.8%), 1,627 skunks (27.0%), 1,380 bats (22.9%), 427 foxes (7.1%), 303 cats (5.0%), 65 cattle (1.1%), and 70 dogs (1.2%). Compared to 2010, a significant increase was reported among rabid skunks. Canine rabies virus transmission has been eliminated in the United States since 2004 and monitoring the rabies virus variant associated with rabid domestic animals is critical. We evaluated rabies diagnostic submission data for the US from 2008-2011 for reported rabid dogs, cats and coyotes. A total of 1,546 rabid cats, dogs and coyotes were reported, with rabies virus variants characterized in 35%. Cats comprised the majority of rabid animals not characterized. No canine rabies virus variants were reported. Most rabid domestic animals were infected with the rabies virus variant circulating in the predominant mesocarnivore reservoir from the geographic area of submission. However, isolated cases associated with bat rabies virus variants were reported. These findings highlight the need for enhanced surveillance to monitor the circulation of rabies virus variants in local carnivore populations to determine emergence of new rabies virus variants. State health departments may not test suspect rabid animals unless a human exposure occurs. Moreover, variant typing is not performed on all samples though CDC provides rabies virus characterization, if requested. The public health implications of host shifts and potential spillover of rabies virus variants from wildlife to domestic animals reinforces the need for additional laboratory diagnostics.

CO.26**RABIES AND RABIES PROBLEMS IN NIGERIA**

Ogunkoya AB^{1,2,3,4,5,6} – ¹Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria – Veterinary Medicine, ²Osinubi, MOV – Rabies Research Unit, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, G.A-U.S.A, ³Garba, A – Diagnostic and Extension Dept, National Veterinary Research Institute, Vom- Nigeria, ⁴Audu, SW – Dept. of Vet. Medicine, Fac. of Vet. Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria-Nigeria, ⁵Atuman, YJ – Diagnostic and Extension Dept, National Veterinary Research Institute, Vom- Nigeria, ⁶Emhiyein, AM – Dept. of Vet. Medicine, Fac. of Vet. Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria-Nigeria

Official reporting of rabies in Nigeria started in 1912. The National Veterinary Research Institute (NVRI), Vom, within the last 77 years, confirmed 4809 cases of animal rabies in Nigeria. Rabies control through immunization programs has crashed woefully and consequently, the rabies situation has become chaotic and confounding. Locally, only 2,137,615 doses of dog anti-rabies vaccines were produced between 1956 and 2005 (average 43,625 per year) by NVRI, Vom. Dog population in Nigeria is currently estimated at 8 million. In the last 20 years of research and follow ups on rabies and associated problems, only 10% of the dogs’ population received anti-rabies immunization. Within the immunized dogs, rabies outbreaks occurred frequently. Evidences on the trend of rabies cases recorded (1983-1991) confirmed 40%-60% increase in rabies positive cases for every decade in Nigeria. Molecular epidemiology and phylogenetic analysis study of some dog rabies isolates in Plateau State confirmed the flow of rabies virus from neighboring and far North African countries into Nigeria. Some studies of prevalence of rabies antigens in the brain and saliva of apparently healthy dogs slaughtered for human consumption in Nigeria; revealed a 28% prevalence of rabies antigen in the consumed dogs in North-West, 31% from North-East and 24% from North-Central regions of Nigeria. Similarly, 6%-8% of the dogs had rabies antigen in their saliva at the point of slaughter. A study of the epidemiology of rabies in wildlife in Bauchi State, revealed the presence of rabies antigen in mongoose (11%), jackals (9%), squirrels (8.3%), hyrax (17%) and wild cats (16%). This suggests an ongoing

spread of rabies within the wild animals in Nigeria. Conclusively, rabies is a problem in Nigeria such that even the apparently healthy dogs slaughtered for human consumption harbor the viral antigen in the brains and saliva. This is an obvious public health risk and may have serious implication. The low number of Nigerian dogs immunized (10% instead of 70-80%) leaves the country with abundance of epizootic siblings for rabies outbreaks. The wide spread of rabies in the wildlife is an emerging proof of the role of wildlife in the epidemiology of rabies in Nigeria. It is our recommendation that a RITA model to rabies control as employed in the Americas be applied in West Africa especially Nigeria. **Keywords:** Rabies, Rabies problem, Rabies virus, Apparently healthy dogs, Vaccination, Nigeria.

CO.27

TRANSLOCATION OF DOG RABIES IN ISRAEL BY TOURISM

David D¹, Dveres N¹, Yakobson BA², Dvorkin Z³, Davidson I⁴, Yagil J⁵, Oved Z⁶ – ¹Kimron Veterinary Institute – Rabies Laboratory, ²Kimron Veterinary Institute – Director, ³Director of Veterinary Services, Jerusalem district, Israel, ⁴Kimron Veterinary Institute, Bet Dagan ⁵⁰²⁵⁰, POB ¹², Israel, ⁵Bet Zait, Israel, ⁶Veterinary Services, State of Israel, Bet Dagan, ⁵⁰²⁵⁰, Israel

Rabies is enzootic throughout the Middle East. In Israel rabies is endemic and stray dogs (*Canis familiaris*) form the main reservoir and transmitter. Since 2004 and to the present the state of Israel has been forced to cope with a rabies strain new to the country, designated V7. Because dogs are in close contact with people the new V7 strain that circulated at the Northern region of Israel possesses a serious health threat to humans. In the present communication we report a tourism type of rabies translocation, in which a family from Jerusalem took their unvaccinated dog to the northern Israel. On 19 December, 2011 a dog was diagnosed positive for rabies in the Israeli National Rabies Laboratory at the Kimron Veterinary Institute. A case investigation revealed that on 13 December, a 3 years old Golden Retriever dog belonging to a family living in Jerusalem showed clinical symptoms of inappetence, salivation and incoordination. The dog was vaccinated twice against distemper and parvovirus Duramune Max® (Fort Dodge, Iowa, USA) but not against rabies. On 15 December the dog was admitted to a private veterinary clinic in Jerusalem and under clinical examination it showed unusually alert behaviour and reaction to external stimuli. The dog showed no clinical symptoms of aggression during the period of illness. On 16 December the dog showed ulterior deterioration of clinical symptoms with convulsions and unconsciousness and was treated with diazepam (Assival, Teva). As no health improvement was seen, the dog was euthanized on 18 December and was transferred to the Kimron Veterinary Institute. Rabies was diagnosed by direct fluorescence assay, and was confirmed by isolation of the rabies virus in tissue culture and its inoculation into a family of suckling mice. Reverse transcriptase – PCR and direct sequencing were applied to a 469 base pair (bp) G-L intergenic region fragment and to the entire 1350 bp of the nucleoprotein gene. A phylogenetic tree showed that the Jerusalem dog's sequence belonged to the V7 genetic variant that circulated in northern Israel. During the period of 2004 to 2011, 181 rabies viruses belonging to V7 genetic variants were isolated from rabid animals in northern Israel. The Jerusalem dog's rabies virus isolate was the only example of the V7 genetic variant that was ever isolated from an animal in Central Israel. The Jerusalem dog was probably bitten by the rabid stray dog that circulated on the eastern coast of the Lake Kinneret located in Northern Israel. After an incubation period of about 2 months the clinical symptoms appeared in Jerusalem. As a consequence of this rabies diagnosis, post-exposure vaccination was given to the two owners, two veterinarians and an additional 18 people, who had come into

contact with the dog in Jerusalem. Various sanitary measures were imposed in Jerusalem, such as reinforcement of measures against stray animals, boosting of domestic dog vaccination and quarantine of unvaccinated dogs. Because domestic animals can serve as a bridge between wildlife rabies reservoirs and humans, their vaccination greatly effective as public health tools that are available to safeguard the human health.

CO.28

TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA RABIA CANINA EN MÉXICO

Vargas FP¹, Gutiérrez VC¹, Chávez IAF¹, Lezana MAF¹ – ¹Secretaría de Salud/México – CENAPRECE

En México como resultado de las campañas masivas de vacunación antirrábica canina a partir de 1990 y que se han mantenido a la fecha, el registro de casos confirmados por laboratorio por **IFD** en esta especie observó un decremento sostenido año con año; comparando este comportamiento en dos períodos, refiere que en el primero de los 90's se acumularon 13,811 casos en contraste se reduce para el segundo del 2000 a 921 casos con decremento del 93.3%, se describen a continuación algunas variables epidemiológicas asociadas a ellos. **Densidad de población**, en la década de los 90's los casos predominaron en municipios con características urbanas por arriba del 80%, afectando colonias o localidades populosas de clase media baja, el resto se ubicó en localidades de municipios con características rurales; en el período del 2000 se invierte esta proporción y predominan los casos en áreas marginadas de las grandes ciudades y de tipo rural. Destaca que los casos de los últimos 3 años comprenden lugares próximos a basureros descontrolados, viviendas en despoblado de alta marginación carentes de servicios públicos básicos (calles, electricidad, agua potable y drenaje) lo que favorece exceso de perros en situación de calle. **Entidades federativas afectadas**, en la década de los 90's los casos ocurrieron en 31 entidades de las 32 en que se divide el país, contrastando tres entidades que acumulan 56% del total de los casos; en el período del 2000 se reduce a 24 las entidades que registraron casos, de éstas dos acumulan el 65% del total. **Dosis aplicadas de vacuna antirrábica canina**, a través de centros de salud como punto de referencia para ubicar en la localidad los puestos o brigadas de vacunación ya identificadas por otras jornadas de salud por la comunidad; en la década de los 90's se aplicaron 101.3 millones de dosis, para el período del 2000 se incrementó a 196.2 millones de dosis. **Epidemiología molecular, de la transferencia de tecnología del CDC**, a partir de 1996 con la caracterización antigénica con panel de 8 anticuerpos monoclonales, se corroboró en algunas muestras (160) de perro o de personas fallecidas por rabia transmitida por este animal según interrogatorio, la presencia de la variante V1 (perro) en el 95% de las muestras y el resto V3 (zorrillo) y V11 (murciélago). A partir del año 2006 se realizó el secuenciamiento nucleotídico en algunas de estas muestras, se utilizó como referencia la clasificación que hizo el CDC (doce linajes de virus de rabia en perro), corroborando que en la región centro del país continúa presente el linaje D5 por persistir el foco enzoótico en el Valle de México, de manera aislada con casos únicos los linajes D8 en el foco enzoótico de Puebla, D9 en el foco enzoótico de Oaxaca y con casos permanentes en los últimos años el linaje D10 en el sureste en el foco rábico en Yucatán y Chiapas, recientemente se activó el D1 (asociado perro-coyote) en Nuevo León en la frontera con Estados Unidos (Texas).

CO.29**DETECTION OF THE DOG/COYOTE VARIANT OF RABIES VIRUS IN THE MEXICO-US BORDER**

Jaramillo E¹, Villarreal JZ¹, Galindo EIG¹, Carranza P², Meléndez A³ – ¹Laboratorio Estatal de Salud Pública – Secretaría de Salud del Estado de Nuevo León. Guadalupe, Nuevo León, México, ²Centro de Investigación Biomédica del Noreste – Instituto Mexicano del Seguro Social. Monterrey, NL, México, ³Laboratorio de Rabia – Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. México, DF

Currently in the border states of northern Mexico, samples from skunks and dogs that have the V-1 antigenic variant of the rabies virus have been identified, however, genetic analysis indicates that they are strains of skunks. In 2010, 4 cases of human rabies were registered in Mexico, while in Nuevo Leon there was 1 case of canine rabies transmitted by insectivorous bats. It has been almost a decade since the apparent non-transmission of the (V-1) variant dog/coyote, in the border between Mexico (Coahuila and Tamaulipas) and USA (Texas). Surveillance data suggest that this variant of canine rabies virus is not longer in circulation in the United States of America, however, the last detection was registered in March 2004 in the US-Mexico border. In addition, one dog carrying the rabies virus was detected in June 2011 in the town of Sabinas Hidalgo, NL., which is about 130 km from the US-Mexico border. This finding is very important because the (V-1) variant (dog/coyote) could be present on the border of both countries. The geography of this region is very similar to Texas, which may permit the free movement of carnivorous species on both sides of the border. Therefore, the objective of this study was to identify the (V-1) variant of rabies virus in the dog from Sabinas Hidalgo, NL. By using direct immunofluorescence, antigenic characterization with a panel of 8 monoclonal antibodies, RT-PCR and nucleotide sequencing techniques, the 709pb (751nt to 1460nt) and 420pb (992nt to 1411nt) fragments from the semi-variable region of the viral N protein were analyzed. According to the antigenic characterization, the variant found was the V-1, while the molecular study was also positive for this variant. Our results suggest the same lineages published by Velasco-Villa et al., 2005 in the analyzed sample. This study demonstrates the actual prevalence of the V-1 variant (dog/coyote) in the US-Mexico border and warns about the risk for transmission of the V-1 variant to humans, as well as to domestic and wild animals. Acknowledgements: We are grateful to Miguel Angel Zuniga, Isabel Aguilar Tavitas and Alma Liliana Lizarán Meneses for their support in the diagnosis of rabies virus. Financial support: This work was supported by the Rabies Program of the Ministry of Health of Nuevo Leon and Health Services of Nuevo Leon.

CO.30**IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LOS MURCIÉLAGOS INSECTÍVOROS EN LA TRANSMISIÓN DEL VIRUS RABIA A FELINOS Y OTROS MURCIÉLAGOS CASEROS EN EL VALLE DEL CAUCA, COLOMBIA**

Núñez CM¹, Páez MA², Hernández RC³, Escobar DH⁴, Bonelo PA¹ – ¹Grupo VIREM. Laboratorio de Virología. Universidad del Valle – Valle del Cauca. Colombia, ²Laboratorio Virología. INS-Bogotá – Bogotá. Colombia, ³Unidad Ejecutora de Saneamiento del Valle – Valle del Cauca. Colombia, ⁴Secretaría Departamental de Salud del Valle del Cauca – Valle del Cauca. Colombia

En los últimos diez años se ha destacado la importancia epidemiológica de los murciélagos insectívoros como transmisores de la rabia a felinos y otros

murciélagos insectívoros/caseros en Colombia. En junio del 2012, después de 21 años sin registrarse casos de rabia en humanos en el Departamento del Valle del Cauca, se presentan dos muertes en mujeres mordidas por gato infectado con la variante antigénica 4 (VAg4), cuyo reservorio es el murciélago insectívoro *Tadarida brasiliensis*. **Objetivos.** Determinar las asociaciones entre especies de murciélagos, su comportamiento, la transmisión del virus entre ellos y su significado epidemiológico con énfasis en riesgo para la población humana y mascotas. **Metodología.** Durante el periodo diciembre 1999 a junio 2012, fueron capturados más de 1.321 murciélagos por el programa de vigilancia de rabia en el departamento del Valle del Cauca. El diagnóstico de rabia se hizo por inmunofluorescencia directa e inoculación en ratones, utilizando tejido encefálico de los murciélagos capturados. La tipificación viral se hizo por inmunofluorescencia indirecta usando anticuerpos monoclonales. **Resultados.** Se detectaron dos ejemplares de *Eptesicus brasiliensis* positivos para rabia en los años 2000 y 2002, y dos casos más en especímenes de *E. brasiliensis* y *Molossus molossus*, en el 2008. Se encontró virus rabia VAg3 en gato año 2009 y VAg4 en humano mordido por gato año 2012. Se encontraron distintas especies de murciélagos, como *E. brasiliensis*, *M. molossus*, *Myotis nigricans*, *Glossophaga soricina*, *Noctilio albiventris* y *Carollia perspicillata*, compartiendo refugios en casas. Se detectaron virus rábicos de VAg 3 y 4, en murciélagos *M.molossus* y *E.brasiliensis* así como en gato y dos humanos. **Conclusiones.** En Valle la presencia de las VAg 3 y 4 del virus rábico en murciélagos insectívoros/caseros, probablemente, ha sido facilitada por la deforestación de los hábitats naturales de estas especies; así como el estilo de arquitectura urbana que provee un hábitat artificial que posibilita el contacto físico entre las especies, aumentando la probabilidad de transmisión de rabia entre estas y en las personas que habitan las casas invadidas. Ante las dificultades para controlar la rabia en murciélagos y la falta de herramientas adecuadas, la vigilancia continua de la enfermedad en los murciélagos, basada en el diagnóstico y la tipificación de los virus rábicos por laboratorio, en los asentamientos humanos y alrededor de ellos, la vacunación preventiva en animales domésticos y de producción, así como la educación de la comunidad para la concientización del riesgo y la recolección pasiva de muestras para su análisis, se convierten en las mejores herramientas para prevenir la transmisión a humanos. **Agradecimientos y Financiación.** Secretarías de Salud Departamental Valle y Municipal Cali, Unidad Ejecutora de Saneamiento Valle, Laboratorios del Instituto Nacional de Salud y Universidad del Valle. Núñez MC. Infectio. 2012; 16(1): 23-29.

CO.31**SECONDARY TRANSMISSION OF RABIES IN LATIN AMERICA**

Kotait I¹, Carrieri ML², Rupprecht C³ – ¹Instituto Pasteur, ²Instituto Pasteur – Seção de Diagnóstico, ³Centers for Disease Prevention and Control

Compared to primary pathways among reservoirs, secondary transmission of rabies virus has not received much attention from researchers or public health professionals, because spillover of infection from hematophagous and non-hematophagous bats to a potential vector is believed to be uncommon. This review seeks to remind those working on Latin American rabies control programs of the possibility of a bat-cathuman pathway. Following the increase in the control of canine rabies in most Latin American countries, epidemiological surveillance also focused on hematophagous and non-hematophagous bats and the use of molecular techniques in the characterization of rabies. At least eight cases of secondary transmission to humans were identified in Latin America from 2001 to 2012: one in Brazil (2001), two in Costa Rica (2001),

four in Colombia (two in 2008 and two in 2012) and one in Ecuador (2009). In each case, the epidemiological investigation implicated a cat as the vector. The antigenic and genetic analyses identified variants maintained by the hematophagous bat *Desmodus rotundus*. Fruit-eating bats in the genus *Artibeus* may also be affected by a variant similar to that of *D. rotundus*. Such fruit bats may be found in urban areas. Such affected species can transmit rabies virus to felids, which are important predators of bats. Therefore, in cases of human rabies following aggression by cats in areas that are otherwise free of canine rabies (variants 1 and 2) but where there are rabies epizootics in sentinels such as herbivores, the hypothesis of secondary transmission of bat rabies viruses should always be investigated.

CO.32 STANDARDS AND ASSAYS FOR RABIES SEROLOGY

Moore S¹, Hanlon C¹ – ¹Kansas State University – KSVDL/Rabies Laboratory

Several immunoassays are currently used to measure humoral immunity to the rabies virus. A standard or reference serum is a consistent component of all assays to standardize the results and control the assay performance. Two human international standard rabies immune globulin (SRIG) reference serum preparations are recognized by the World Health Organization (WHO): the first international WHO SRIG(WHO 1) with a potency of 59 IU and the second WHO SRIG(WHO 2) with a potency of 30 IU. The WHO 1 SRIG is also known as RIG Lot R-3 in the United States, distributed by Center for Biological Evaluation and Research (CBER). The WHO 2 SRIG is distributed by National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) in the UK. These standards are used globally to promote uniform potency measurement of RIG products used for prophylaxis, individual vaccine response, and disease diagnosis in a standard international unit (IU/mL). Because it is important to have consistent and accurate assignment of IU/mL values for rabies immune globulin (RIG) products and reliable vaccine response measurements for the evaluation of vaccines, the SRIG in use for a particular method should be routinely evaluated for potency against a recognized international standard. Previous studies in 1997 and 2006 have indicated that WHO 1 SRIG has lost potency in comparison with WHO 2 SRIG. Further potency comparison studies have supported this finding. To determine the difference in potency between the two SRIG preparations and their potencies in different assays, a comparison study was performed at KSU. Three potency levels of each SRIG and four rabies virus neutralizing antibody (RVNA) positive serum samples were tested in two rapid fluorescent focus inhibition assays (RFFIT), differing in challenge virus strain and cell type, and two ELISA assays, one indirect and one blocking. Statistical analysis revealed there is no significant difference overall in the measurements when either WHO 1 or WHO 2 are used as the SRIG in the RFFIT assays. However, a trend was clearly seen in higher IU/mL values obtained when WHO1 was used as the SRIG to obtain the IU/mL values. Additionally, for some of the samples a significant difference in IU/mL was found. The comparison of indirect ELISA results, where the kit standard is used to calculate the EU/mL values, revealed a significant difference between WHO 1 and WHO 2 measurements at potency level 2.0 IU/mL; with WHO 1 higher in EU/mL value than WHO 2. The potential for obtaining incongruent measurements with use of different SRIG preparation and the performance of each SRIG in different methods should be considered when selecting assays standards/controls and in the interpretation of rabies serology results.

CO.33

EVALUATION OF AN ELISA TO DETECT RABIES ANTIBODIES IN WILD (FOXES AND RACCOON DOGS) AND DOMESTIC CARNIVORES (DOGS AND CATS)

Cliquet F¹, Guiot AL², Schereffer JL¹, Tribout L¹, Wasniewski M¹, Mähar K³ – ¹Nancy laboratory for rabies and wildlife, France, ²CPB – Conseils en Pharmacie et Biologie – France, ³Estonian Veterinary and Food Laboratory, Virology-Serology department – Estonia

The international organizations (OIE, WHO and European Commission) have promoted the use of serological testing in addition to other specific requirements as an alternative to the quarantine for free movements of pets in certain countries. They have also recommended that countries involved in oral vaccination programmes against rabies should monitor the efficacy of the campaigns by testing a certain number of field samples collected from the target species to check their immunity against rabies. The WHO/OIE reference tests (the FAVN test and the RFFIT) are time-consuming, expensive, require highly-trained technicians, the maintenance of cell cultures, laboratories with a high containment level and vaccinated technicians to handle live rabies virus. In addition, since they are based on cell cultures, they are sensitive to any cytotoxic products and contaminating agents present in samples. We have evaluated the performances of a commercial ELISA (BioPro Rabies ELISA Ab kit, Czech Republic), a blocking ELISA that detects rabies virus antibodies, in reference to the FAVN test. The specificity assessed on 315 samples from unvaccinated dogs and cats was 100%. A total of 701 samples from vaccinated dogs and cats were tested using the FAVN test and the ELISA. The overall agreement between the two tests was found equal to 86%. Considering samples from wildlife, a total of 188 sera from foxes and raccoon dogs were sampled in a rabies-free country. The specificity reached 100% in those sera taken from naïve animals. Overall, a high concordance (95%: 648 out of 682 sera) was observed between the BioPro ELISA and the FAVN test, which was similar in sera from red foxes (95.1%: 388 out of 408 sera) and raccoon dogs (94.9%: 260 out of 274 sera). The concordance between tetracycline and seropositivity results was also evaluated. The overall agreement with tetracycline results was excellent in the fox for both the BioPro ELISA (95.9%) and the FAVN test (91.8%). Concordance was slightly lower in the raccoon dog, with a value of 82.8% for the BioPro ELISA and 78.4% for the FAVN test. Rabies antibodies were equally detected with the BioPro ELISA in animals vaccinated with different types of vaccines (SAG2 or VRG vaccine baits) and in highly haemolysed sera. In our hands, the BioPro ELISA is a valuable alternative to the FAVN test for assessing rabies antibody titres in vaccinated pets and in fox and raccoon dog populations for the follow up of oral vaccination campaigns efficacy. An inter laboratory collaborative study is planned in the next future to assess the reproducibility of the BioPro ELISA for laboratories involved in the monitoring of oral vaccination programmes.

CO.34

DETECTION OF RABIES VIRUS – SPECIFIC ANTIBODIES IN WILD MAMMALS FROM A RAINFOREST AREA, SÃO PAULO, BRAZIL USING RFFIT, SFIMT AND ELISA TECHNIQUES

Araujo DB¹, Wasniewski M², Rodrigues CS³, Campos ACA³, Martorelli LFA⁴, Kataoka APAG⁴, Cunha EMS⁵, Durigon EL³, Favoretto SR^{3,6} – ¹Universidade de São Paulo – Núcleo de Pesquisas em Raiva – Laboratório de Virologia Clínica e Molecular, ²Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife, ³Universidade de São Paulo, ⁴Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo – COVISA, ⁵Instituto Biológico, ⁶Instituto Pasteur de São Paulo

The emergent importance of rabies in wild animals in Brazil demonstrates the necessity of continuous epidemiological surveillance in these animal species aiming the development of better strategies for the prevention and control of the disease. The use of blood serum samples from several wild species captured in a native Rainforest area in the North coast of São Paulo State, Brazil, was an excellent opportunity for the research of rabies virus circulation among wildlife in the region, and also to compare different techniques for antibodies detection. In this study we used the “Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test – RFFIT, the Simplified Fluorescent Inhibition Microtest – SFIMT and the Enzyme Linked Immunosorbent Assay – ELISA techniques for the detection of rabies virus-specific antibodies in terrestrial wild mammals. Out of 139 samples, 15 (10,8%) presented positive titers for RFFIT (“gold standard” for detection of rabies virus neutralizing antibodies), 50 (35,9%) positive titers for SFIMT and 02 (1,43%) positive titers for ELISA. When comparing RFFIT and SFIMT, 100 (72%) samples presented concordant results when considering positive and negative titers. These results are an evidence of rabies virus circulation between the wild animal species (mainly opossums, capuchin-monkey and coati) in the studied area, even when considering the low concordance between RFFIT and SFIMT. The discordant results between ELISA and RFFIT or ELISA and SFIMT, (99,3%), can be due to the fact that the ELISA kit used was developed for vaccinated foxes, and when considering the Brazilian fauna, which present a great species variety without the use of oral vaccination, the efficacy of the technique could be affected. This result indicates the importance of continuous research regarding a better knowledge of the role presented by wild animals in rabies circulation and transmission in Brazil. Epidemiologic studies in different regions of the Country could provide a valuable information regarding the prevention and control of the disease, and also aiming the standardization and validation of the different diagnostic serologic techniques, especially considering the great and unique variety of animals present in our Country. Acknowledgments: Gaia Consultoria Ambiental, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

CO.35

ANOMALIES IN THE RABIES INDIRECT FLUORESCENT ANTIBODY TEST CONFOUND ACCURATE ANTEMORTEM DIAGNOSIS OF HUMAN RABIES

Rudd RJ¹, Wong SJ², Appler KK¹ – ¹Rabies Laboratory, Wadsworth Laboratories – New York State Health Dept, ²Wadsworth Center, Diagnostic Immunology Laboratory – New York State Health Dept

The antemortem diagnosis of rabies in humans employs techniques that require accuracy, speed and sensitivity. A combination of histochemical, *in vitro* virus isolation, immunologic and molecular amplification procedures are utilized in an effort to diagnose the disease. Present day technology offers a potentially life-saving treatment for a disease that was considered invariably fatal once clinical signs develop. This new development adds to the need for a rapid diagnosis as early in the course of clinical signs as possible. The techniques offering diagnosis within hours are the direct fluorescent antibody test on skin and the indirect fluorescent antibody procedure on cerebral spinal fluid and serum. We describe examination by indirect fluorescent antibody assay of cerebral spinal fluid and serum taken from patients with viral encephalitis or a presumed viral infection from an agent other than rabies virus. A total of 135 CSF samples from viral encephalitis patients were tested by the rabies indirect fluorescent antibody procedure. A majority of the spinal fluids tested, from patients with encephalitis, presented immunoglobulins that bound to antigens

present in cell culture substrate. Most notable were the reactions on kidney cells provided from sera or spinal fluid obtained from patients diagnosed with the flavivirus infections Powassan Virus or West Nile Virus. The majority of reaction patterns were recognizably different than what is seen with specific anti-rabies antibodies. However, results indicate that false positive results could occur when interpreting the rabies indirect fluorescent antibody procedure. A staining pattern appearing similar to specific anti-rabies staining was observed in 7 of the 135 spinal fluids examined. The potential for false positive results documented in this work offers weight to the argument that tandem positive results from two diagnostic test platforms are essential when diagnosing rabies in the human patient.

CO.36

UNIQUE RABIES VIRUS VARIANT AND GENETIC LINEAGE IN INSECTIVOROUS BATS *Histiotus velatus*, BRAZIL.

Kataoka APAG¹, Favoretto SR², Martorelli LFA¹, Campos ACA⁴, Oliveira RN², Rosa AR¹, Almeida MF¹, Araujo DB⁴, Sodre MM¹, Rodrigues CS⁴, Sacramento DRV⁵, Durigon EL⁴ – ¹Centro de Controle de Zoonoses-COVISA-PMSP, ²Instituto Pasteur de Sao Paulo, ³Universidade de Sao Paulo – ICB – Microbiologia, ⁴Universidade de Sao Paulo, ⁵Genomic Engenharia Molecular

Bats represent approximately one-third of the Brazilian mammal fauna and the Rabies virus has been isolated from 41 of the 167 species of bats present in the country. A *Rabies virus* independent species-specific variant was detected in 16 insectivorous bats *Histiotus velatus* in the Southeast of Brazil from 1995 to 2009. The antigenic characterization was made by monoclonal antibodies panel from Centers for Disease Control and Prevention (CDC – Atlanta, USA) and the genetic characterization was performed by sequencing of carboxi-terminal portion of nucleoprotein followed by Maximum Likelihood (ML) genetic analysis with GARLi software. The antigenic characterization made in 12 of these samples showed a unique profile previously described only for the insectivorous bats *Histiotus velatus* (positive reactivity only with MAB C12 from the utilized panel). The entire 16 samples positive to rabies virus were genetically characterized and they were segregated in the independent monophyletic cluster supported by high bootstrap values. These sequences showed a minimal average intrinsic distance whitening group (1,3%) but they presented low similarity when compared to other lineages circulating in bats and other wild animal lineages from Brazil and worldwide with a range of 8.8% to 25.4%. The antigenic site of the nucleoprotein at residue 377 to 379 (based on PV strain) analysis showed a residue TEV (Thr-Glu-Val) like a some insectivorous bats and different to vampire bats lineage, marmosets lineage and terrestrial cycle related samples. The PV strain shows the amino acids residues TDV (Thr-Asp-Val), *D. rotundus* isolates show AET (Ala-Glu-Thr) and Marmoset lineage show the amino acids residues TEA (Thr-Glu-Ala). This antigenic variant and genetic lineage has been identified in a large area covering various kilometers and different biomes for at least 14 years between the states of Minas Gerais and Sao Paulo exclusively in this bat species. Surprisingly the system documentation not describe this antigenic variant and genetic lineage found before in other bat species and the *Histiotus velatus* bat species never ever found before with a different antigenic variant and genetic lineage. The fact of this lineage has been isolated only in this species besides long temporal space and geographically distal to each other, associated with phylogenetic results and previously antigenic data suggest strongly that this rabies virus lineage is associated to *Histiotus velatus*.

CO.37**DETECTION OF RABIES VIRUS IN ORGANS OF BATS OF GENUS ARTIBEUS BY MEANS OF HEMI-NESTED RT-PCR AND REAL TIME RTPCR TECHNIQUES**

Scheffer KC¹, Fahl WO¹, Iamamoto K¹, Carnieli Jr P¹, Carrieri ML¹, Oliveira RN¹, Ito FH² – ¹Instituto Pasteur de São Paulo, ²Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo

Molecular techniques have been used increasingly as tools for the diagnosis by detecting the rabies virus genome. This study aimed to detect the presence of rabies virus in the wash of skull and in different organs of the genus *Artibeus* bats using the hemi-nested RT-PCR (hnRT-PCR) and Real Time RT-PCR molecular techniques. From approximately 4,000 specimens of bats received at the Institute Pasteur for rabies diagnosis, 30 bats of the genus *Artibeus* were selected, with records of positive results for rabies by the traditional techniques of direct fluorescent antibody test (FAT) and inoculation of murine neuroblastoma cell line (N2A). Salivary glands, urinary bladders, kidneys, lungs, and also the washes of the skullcaps of the specimens were collected. The scraping of the skull was performed with the aid of sterile pipette tips and then washed with 1,000µL diluent composed of 0.85% saline solution, supplemented with 2% Bovine Fetal Serum, free of rabies virus specific antibodies and containing 0.1% Gentamicin Sulfate. The urinary bladders were diluted using the same diluent mentioned above, to 1:20 (w/v) and other organs were diluted 1:10 (w/v). The extraction of total RNA was carried out using the TRIzol® and the reverse transcription was followed by PCR and hnRT-PCR using primers specific for the gene encoding the N protein. From the product derived by the reverse transcription, the Real Time RTPCR technique was run by using primers and probes specific for the antigenic variant 3 of rabies virus. When evaluated the total samples analyzed, the overall results of the sensitivity for both the hnRT-PCR and Real Time RT-PCR techniques was 86%. A comparison between the hnRT-PCR and Real Time RT-PCR techniques performed by Fisher's exact test has revealed that the proportion of positives detected for the washing of the skull was similar to that of the organs examinations ($P > 0.05$). In relation to the positive results found in hnRT-PCR and Real Time RT-PCR techniques were 100% in brain washes, 90% and 93.33% in the salivary glands, 83.33% and 90% in urinary bladders, 80% and 93.33% in kidneys, and 76.67% and 50% in lungs. These results suggest that both the hnRT-PCR and the Real Time RT-PCR techniques can be used as complementary methods for the rabies diagnosis and the techniques are sensitive enough for use in studies of pathogenesis. The Real Time RT-PCR technique performed in this study proved effective in detecting the rabies virus in different organs and extra neural tissues with the advantage of being a faster and more sensitive procedure.

CO.38**IDENTIFICATION OF THE SPECIES OF RESERVOIRS AND HOSTS OF THE RABIES VIRUS AND OTHER PATHOGENS BY SEQUENCING OF THE CYTOCHROME-B MITOCHONDRIAL DNA GENE**

Carnieli Jr P¹, Batista HBCR², Scheffer KC², Fahl WO², Lima JYO², Oliveira RN², Castilho JG², Iamamoto K², Carrieri ML², Kotait I² – ¹Instituto Pasteur, Brasil – Diagnóstico, ²Instituto Pasteur – Diagnóstico

The identification of animal species that transmit pathogens such as the rabies virus is of the utmost importance for public health and the natural history of infectious and contagious diseases. Diagnostic laboratories very often receive mauled or decomposing animal carcasses, particularly of bats, rendering

morphometric identification unviable. The existence of different regional names for the same animal, morphological variability and the lack of staff trained in zoological identification constitute a serious problem for epidemiological surveillance. Molecular techniques are used routinely and effectively in systematics, evolution and ecology to identify species and can even be used to identify hybrids that originated from genetically close animals, in which the differences very often go undetected by morphometry. Some mitochondrial DNA (mt- DNA) genetic markers, such as control region sequences and the genes encoding cytochromes b and c, are frequently used in the genetic identification of species. Many of the genetic sequences for these genes are stored in public-domain websites such as GenBank, allowing new sequences to be compared with existing ones in databases. The objective of this study is to build a database with genetic sequences from the cytochrome b gene of rabies reservoir species for use in the identification of these species. mt-DNA fragments were amplified and sequenced as described previously by Carnieli et al. (2008), using the primers 5'- CGACTAATGACATGAAAAATCACCGTTG-3' (sense) and 5'- TATTCCTTTGCCGTTTACAAGACC-3' (antisense) described by Martins et al. (2007). Sixty-six mt-DNA samples from different species of wingless Brazilian mammals and fifty-four samples from different species of chiropterans were sequenced. Analysis of the genetic sequences from these wingless mammals highlighted the problem of genetic identification of species as only a few sequences of mt-DNA from wingless mammals of Brazil were found in GenBank. For example, there are seven species of marmosets (genus *Callithrix*) but mt-DNA sequences for only some of them are deposited in GenBank. However, the cytochrome b gene sequences obtained from bats in this study, together with morphometric identification carried out in parallel, allowed us to name the species with certainty. From the fifty-four mt-DNA samples from chiropterans, nineteen species from eight genera and four different families were identified. Thus, the method described here is efficient in the identification of animal species and the search for samples of mt-DNA in Natural History Museums and Zoos may complement and certify unequivocally the sequences in the database under construction. Financial Support: Instituto Pasteur, Brazil

CO.39**PHYLOGENETIC ANALYSIS OF RABIES VIRUS IN THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL, SOUTHERN BRAZIL**

Batista HBCR¹, Oliveira RN¹, Carnieli Jr P¹, Ferreira JC², Rosa JCA², Castilho JG¹, Fahl WO¹, de Paula FC¹, Sales EF³, Pacheco SM⁴, Maletich DJ³, Carrieri ML¹, Roehle PM⁵, Kotait I¹ – ¹Instituto Pasteur – Virologia, ²FEPAGRO Saúde Animal, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Eldorado do Sul, RS, Brazil, ³Universidade Federal do Rio Grande do sul(UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil, ⁴Instituto Sauer, Porto Alegre, RS, Brazil, ⁵Universidade Federal do Rio Grande do sul(UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil and FEPAGRO Saúde Animal, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Eldorado do Sul, RS, Brazil

Rabies is a worldwide zoonosis caused by rabies virus (RABV), a member of the *Lyssavirus* genus, family *Rhabdoviridae*. In nature, RABV is maintained in cycles with distinct natural reservoirs. In the urban cycle, the main reservoir for the virus is the domestic dog, on the other hand, in the sylvatic cycle different species can be the reservoir. In Latin America, the main natural RABV reservoir is the haematophagous bat *Desmodus rotundus*. However, RABV lineages adapted to different bat species, including insectivorous and frugivorous bats, have been frequently reported. The RABV lineages isolated from non haematophagous bats are genetically distinct from the RABV lineages whose natural

reservoirs are haematophagous bats. In the State of Rio Grande do Sul (RS), southern Brazil, urban rabies has not been detected since 1988. Nevertheless, rabies remains endemic in haematophagous and non haematophagous bat species. The present work reports the first phylogenetic analyses on RABV isolates from the State of RS, for that, a total of 30 rabies virus (RABV) isolates sent to rabies diagnosis were analyzed. The isolates were recovered from different bat species (*Tadarida brasiliensis*, *Myotis nigricans* and *Histiotus velatus*), from herbivores (bovines and buffalo) and carnivores (domestic dog and cat). The bat species were identified with the aid of a morphological dichotomous key. For the phylogenetic analysis, total RNA was extracted from original brains (herbivores and carnivores) or infected mice (bats) with Trizol and submitted to reverse transcription/polymerase chain reaction (RT-PCR) with primers targeting a initial portion of the nucleoprotein gene (N). Phylogenetic analysis of the sequenced fragments revealed the occurrence of four RABV lineages, named after its natural hosts: *Desmodus rotundus* (haematophagous bat), *Tadarida brasiliensis* (insectivorous bat), *Myotis nigricans* (insectivorous bat) and *Histiotus velatus* (insectivorous bat). All RABV isolates from herbivores belonged to the haematophagous bat *Desmodus rotundus* lineage. The two RABV isolates from carnivores clustered within the *Tadarida brasiliensis* lineage, revealing two occasional spillovers from insectivorous bats to domestic pets, thus not compromising the status of “urban rabies free” of the area. These findings highlight the importance of the identification of RABV lineages and its value as an aid to support rabies surveillance. Financial support: Instituto Pasteur.

CO.40

SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA RABIA EN CHILE. 2000-2011

Yung V¹, Favi M¹, Fernandez J¹ – ¹Instituto de Salud Pública de Chile

En Chile, el año 1990, se detectó el último caso de rabia identificado como variante canina desde entonces esta variante no circula en el país, la importancia de los animales silvestres en la transmisión de la rabia fue reconocida en 1985, cuando se detectó por primera vez rabia en murciélagos insectívoros de la especie *Tadarida brasiliensis*. El reconocimiento de los murciélagos como reservorio de la enfermedad hizo que se ampliaran las acciones de vigilancia epidemiológica hacia esas especies caracterizándose el patrón epidemiológico de la rabia por una endemia en quirópteros. Desde el año 2000 al 2011, se analizaron un total de 32802 muestras para diagnóstico de rabia, de estas 979 fueron positivas (3,0%), 976 murciélagos insectívoros, 2 gatos y 1 perro. Según la distribución geográfica de casos, estos se registraron en las regiones centrales del país, y no se han encontrado muestras positivas al virus rábico en las regiones extremas. A través de tipificación antigénica y genética se han identificado 4 variantes virales que son las responsables de la transmisión de la rabia, los principales reservorios silvestres circulando en el país son murciélagos de la especie *Tadarida brasiliensis*, *Myotis chiloensis*, *Lasiurus cinerius* y *borealis* y finalmente *Histiotus macrotus*. La especie *Tadarida brasiliensis* representa el 91,1% de los casos positivos. Los estudios de caracterización antigénica y genética nos han permitido tener un conocimiento más amplio de la epidemiología de la rabia. El Programa de Control de Rabia contempla la educación de la población para evitar el contacto con murciélagos y el reporte de cualquier mamífero sospechoso, la eliminación de colonias de murciélagos se realiza solamente en casos de detección de especímenes positivos, en razón del importante rol que esta especie desarrolla en la mantención del equilibrio ecológico y dado el bajo porcentaje de positividad a rabia (alrededor de 2%) en capturas masivas de esta especie.

CO.41

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF RABIES VIRUS AND OTHER VIRAL AGENTS ISOLATED FROM BATS IN VENEZUELA.

BOYER L¹, PUJOL F², HIDALGO M¹, PAPO S³ – ¹National Institute of Agricultural Research (INIA) – Rabies Laboratory, ²Venezuelan Institute of Scientific Investigation (IVIC) – Molecular Virology Laboratory, ³National Institute of Integral Agricultural Health (INSAI) – Department of control and prevention of Rabies wildlife

Bats (Chiroptera) are reservoirs for zoonotic diseases, including Rabies, Hendra, Nipah, SARS-CoV, Ebola virus. Hence their importance as a potential reservoir hosts of viruses affecting human and animal health. In our country, there is no knowledge of bats as reservoir for viruses except rabies. The aim of this investigation was the molecular characterization of rabies virus and other viral agents, isolated from bats in Venezuela. The molecular characterization was based on: viruses with impact in public health, persistence in hosts and endemic areas. A total of 54 bats were collected in different states and years. Those were identified and classified into: 12 vampires, 29 frugivorous and 13 insectivorous belonging to different families, genera and species. They were autopsied to collect tissues from different organs including brain tissue of livestock positive to rabies virus. Different systems were used for PCR to detect DNA and RNA viral genomes. Samples were amplified, molecularly characterized and sequenced to identify the phylogeny of each virus. We were able to detect 8 Herpesviruses and 4 Polyomaviruses in trachea and lungs samples from different bat species and one Astrovirus in an intestine of an insectivorous bat. Eight Rabies isolates were grouped in the genus *Lyssavirus* genotype 1. Four of them characterized as antigenic variant 3 (*Desmodus rotundus*). The detection of these viral agents in the Venezuelan bats is the first and paramount information for the study of these unknown agents, which could pose great risk to humans and livestock health in our country. **Acknowledgements:** MCTI-Misión Ciencia, Venezuelan Institute of Scientific Investigation (IVIC): Molecular Virology Laboratory, National Institute of Agricultural Research (INIA): Rabies Laboratory, National Institute of Integral Agricultural Health (INSAI). **Funding:** IVIC. **Almeida M**, *Rev.Inst.Med.trop.S.Paulo*; 53:31, 2011; **Calisher C**, *Rev.Med.Vir*, 17:67, 2007; **Chen Zhue**, *J.Gen.Virol*, 90:883, 2009; **De Mattos C**, *J.Clin.Microbiol*, 34:1553, 1996; **Olivier D**, *PLoS ONE*, 4:e2057, 2008; **Richter R**, *J.Gen.Virol*, 90:44, 2009; **Wong S**, *Rev.Med.Vir*, 17:67, 2007.

CO.43

THE SPATIAL AND TEMPORAL DYNAMICS OF RABIES IN CHINA

Tang Q¹, Yu J¹, Hao L¹, Rayner S², Liang G¹ – ¹China CDC – Institute for Viral Disease Control and Prevention, ²Chinese Academy of Sciences – Wuhan Institute of Virology

Background and Objectives: Recent years have seen a rapid increase in the number of rabies cases in China and an expansion in the geographic distribution of the virus. In spite of the seriousness of the outbreak and increasing number of fatalities, little is known about the phylogeography of the disease in China. In this study, we report an analysis of a set of Nucleocapsid sequences consisting of samples collected through the Chinese National Surveillance System as well as publicly available sequences. This sequence set represents the most comprehensive dataset from China to date, comprising 210 sequences (including 57 new samples) from 15 provinces and covering all

epidemic regions. Using this dataset we investigated genetic diversity, patterns of distribution, and evolutionary history. **Results:** Our analysis indicates that the rabies virus in China is primarily defined by two clades that exhibit distinct population subdivision and translocation patterns and that contributed to the epidemic in different ways. The younger clade originated around 1992 and has properties that closely match the observed spread of the recent epidemic. The older clade originated around 1960 and has a dispersion pattern that suggests it represents a strain associated with a previous outbreak that remained at low levels throughout the country and reemerged in the current epidemic. **Conclusions:** Our findings provide new insight into factors associated with the recent epidemic and are relevant to determining an effective policy for controlling the virus.

CO.44 PLAYING THE ODDS: PRIORITIZING HUMAN RABIES BIOLOGICS IN LIMITED SUPPLY SCENARIOS

Recuenco S¹, Vora NM¹, Rupprecht C¹ – ¹CDC – Rabies Program

Limitations in the availability and access to human rabies biologics in enzootic regions result in most rabies deaths in the developing world. Efforts to supply modern rabies vaccines and immune globulin (RIG) have improved availability, but cost and the lack of structured programs in many countries remain major obstacles to providing optimal care. Proposed policies to provide rabies post-exposure prophylaxis (PEP) at no cost to the patient through government programs are challenged by the limited supply of rabies biologics that providers are able to obtain. In many cases, the demand for biologics exceeds the limited supplies and national rabies programs are therefore forced to ration, resulting in delays or complete failures in provision of adequate PEP. Optimal PEP involves the use of rabies immune globulin and vaccine. While WHO recommendations for PEP are comprehensive, those recommendations offer no guidance on management of rabies exposures when there are limited supplies of biologics in the country nor if there is only vaccine available but no RIG. Complex operationalization issues, such as to how to approach prioritization when both nervous tissue and modern vaccines coexist in a country, or how to optimally integrate private distribution of rabies biologics, are not part of the WHO guidance documents. We present a proposal on how to develop recommendations and guidelines to deal with these scenarios accounting for local rabies epidemiology, patient age and body size, delays after exposure, and cultural and social issues. Several Old and New World country cases are presented to highlight how these challenging circumstances might be managed and overcome.

CO.45 IMMUNE RESPONSE OF BALB/C MICE IMMUNIZED WITH VERO CELL RABIES VACCINE AND BpMPLA-SE ADJUVANT

Frazatti-Gallina NM¹, Silva ABP, Rinaldi DP, Silveri A, Raw I, Menezes CRB – ¹Instituto Butantan – Laboratório de Raiva

The prophylaxis is an important strategy to control of human and animal rabies disease. The vaccine from Vero cellular culture for human use is efficacy and safety. However, because the technology used to produce this vaccine is expensive this product costs about ten dollars. This cost makes them impossible the use of this vaccine type in poor countries where the animal rabies control is inefficient and there many cases of human rabies. Rabies disease

is responsible for about 55,000 deaths per year in the world. The objective of this study was evaluate the humoral immune response of mice (Balb/c) immunized with three different doses of Vero rabies vaccine associated with the BpMPLA-SE adjuvant. This adjuvant is a product obtained from Bordetella pertussis. Three groups of ten mice were immunized with two doses of 500µl (G1), 250µl (G2) or 125µl (G3) of Vero cell rabies vaccine (IB-lot 1103075) mixed with BpMPLA-SE (10µg/dose). Three groups control (Gc) received only rabies vaccine. The immunization occurred on days 0 and 21 and samples were taken ten days after the last dose injected and on days 60, 120 and 180 to determine the titers of neutralizing antibodies for rabies virus in BHK21 cells (RFFIT). The averages of the neutralizing antibodies titers found in the samples from each group ten days after finished the immunization were 39.2, 33.1, and 20.4 IU/ml for groups G1, G2 and G3 respectively. The results obtained on day 180 were 17.1 IU/ml (G1), 10.6 IU/ml (G2) and 9.8 (G3). In the control groups the averages of the antibodies titers were: 29.7 (Gc1), 26.9 (Gc2) and 22.2 IU/ml (Gc3) after immunization and 10.7 (Gc1), 9.5 (Gc2) and 8.5 IU/ml (Gc3) on day 180 (Gc3). These data show that the adjuvant BpMPLA-SE increased the humoral immune response for rabies vaccine in Balb/c mice independent of the volume of vaccine utilized to immunize the animals. The results found are very important to reduce the number of doses and the volume of Vero cell rabies vaccine utilized in the immunization against rabies. Financial Support: Butantan Foundation

CO.46 SAFETY AND IMMUNOGENICITY OF THE PURIFIED VERO RABIES VACCINE NEXT GENERATION IN CHINESE PEDIATRIC (≥ 10 YEARS) AND ADULT POPULATIONS

Pichon S¹, Li R², Li J³, Shu JD¹, Chavand P¹, Minutello M¹, Guinet-Morlot F¹ – ¹Sanofi Pasteur, ²Guangxi Center for Disease Prevention and Control, ³National Institutes for Food and Drug Control

Background: The Purified Vero cell Rabies Vaccine Next Generation (PVRV-NG) is a highly purified vaccine developed with innovative technology and human and animal origin components-free medium. It was shown to be at least as immunogenic as Verorab[™] and presented a similar safety profile in a phase II clinical study conducted in France (pre exposure regimen). A phase III clinical study was performed in Chinese pediatric (≥ 10 years) and adult populations in simulated post-exposure regimen to further document PVRV-NG in comparison to Verorab[™]. **Methods:** This was a randomized, blind-observer, controlled study in healthy subjects aged 10 to 17 years (pediatric cohort) or ≥ 18 years (adult cohort). Participants received five doses by intramuscular route of PVRV-NG or Verorab[™] (ratio 2:1 in each age group) at Do, D3, D7, D14 and D28 as per recommendation for post-exposure prophylaxis (Essen schedule). No rabies immune-globulins were administered concomitantly with the first vaccine dose. Immunogenicity was evaluated at Do, D14 and D42 by measuring the level of rabies virus neutralizing antibodies (RVNA) using the rapid fluorescent focus inhibition test. Testings were performed at the National Institute for Food and Drug Control (Beijing). Safety was evaluated with a list of predefined solicited injection site and systemic reactions during the period between Do and D14 and during the seven days after the 2 last doses; any adverse events until 28 days after the final dose and any SAE until 6 months after the final dose were also recorded. **Results:** 816 participants were enrolled; 408 in each age group corresponding to 272 in PVRV-NG group and 136 in Verorab[™] group. The predefined criterion for noninferiority in terms of proportions of participants with RVNA titers ≥ 0.5 IU/mL at D14 (before the 4th injection) was met in the per-protocol analysis set and confirmed in the full-analysis set population,

in each of the 2 age groups. All subject had titer ≥ 0.5 IU/mL at D42 whatever the age group and the vaccine received. PVRV-NG was safe and well tolerated after each vaccination and its safety profile was similar to Verorab™ in terms of solicited injection site and systemic reactions, as well as unsolicited adverse events. There were no serious adverse events related to vaccination. No safety signal emerged during the course of the study. **Conclusions:** The phase III clinical study results showed that PVRV-NG is at least as immunogenic as Verorab™ and presented a similar safety profile, when administered according to the ESSEN regimen in pediatric (≥ 10 years) and in adult populations. Taken together with the results of the previous Phase II clinical study, this confirms that PVRV-NG is an improved and highly purified alternative for rabies pre- and postexposure prophylaxis.

CO.47

DEVELOPMENT OF AN IN VITRO ELISA ASSAY FOR THE QUANTIFICATION OF THE IMMUNOGENIC GLYCOPROTEIN G PRESENT IN VACCINE BATCHES: COMPARAISON OF IN VIVO AND IN VITRO VACCINE POTENCY TESTS

Jallet C¹, Castel G¹, Chteoui M¹, Tordo N² – ¹Institut Pasteur – Unit Antiviral Strategies, ²Institut Pasteur – Virology

Since several years, there is a global tendency towards limiting and even sometimes waiving the use of animal experiments in Research and Production. However for Human and Veterinary rabies vaccine producers and controllers, the *in vivo* NIH assay still remains the standard routine potency test before batch release. Nevertheless, fundamental studies have been accumulated to correlate the structural presentation of the main rabies antigen, the glycoprotein G, and its immunogenicity. The G protein contains two main antigenic sites: site II requires a folding of the G ectodomain to bring in proximity peptides distant in the primary sequence of the protein; site III which is less dispersed along the ectodomain but also requires a folded conformation of the ectodomain. Both sites are recognized by specific monoclonal antibodies (mAbs) that are in general neutralizing viral infection. Among them mAb D1 (IgG I isotype), directed against site III is specific of the trimeric state of the glycoprotein (it recognizes the native but not mercapto-ethanol and/or SDS-treated G) which is presumed to be the most immunogenic form of the antigen. mAb D1 has been extensively used to evaluate the stability of G trimers (Jallet et al., 1999, J. Virol, 73: 225-33; Desmezieres et al., 2003, Virus Res. 91: 181-7; Sissoeff et al, 2005, J. Gen. Virol, 86: 2543-52). It has also been proven suitable in ELISA to monitor the consistency of the lot to lot rabies vaccine production and to evaluate the glycoprotein content (Fournier-Caruana et al, 2003, Biologicals, 31 : 9-16). Since the end of the 90's, the French National Regulatory Authority in charge of human rabies vaccine control (ANSM) has decided to use this ELISA test instead of the single radial immuno-diffusion assay (SRD) to monitor the consistency of production of rabies vaccines. The ELISA has been transferred from Pasteur Institute to ANSM, improved, optimised and then validated. Since 2001, the consistency of production has been established on around 1000 batches while comparing the NIH assay and the ELISA test. The results are homogenous between both methods. In the perspective of replacing *in vivo* by *in vitro* assays, vaccine samples have been artificially altered by heating and the evaluation of the glycoprotein content was assayed by mAb-D1 ELISA. This assay was shown to be sensitive enough to detect vaccine alterations and to discriminate between low and high-potent potency batches. This type of ELISA assay may have a promising future for waiving *in vivo* rabies potency test and promote *in vitro* antigenic/immunogenic quantification/qualification of the G protein for vaccine batches.

CO.48

MOVING TOWARDS THE REPLACEMENT OF THE NIH TEST

Morlot FG¹, CHABAUD-RIOU M¹, CHAPSAL JM² – ¹SANOFI PASTEUR – R&D, ²SANOFI PASTEUR – IO

Potency testing of inactivated rabies vaccines is traditionally performed by an intracerebral (IC) challenge method on mice. The method was originally developed by the National Institutes of Health (NIH) in the 1950s for potency testing of inactivated rabies vaccines for human use. The NIH test is widely recognized and is currently required by the World Health Organization (WHO) and Pharmacopoeias for rabies vaccines release. Nevertheless, the NIH challenge method presents a number of limitation and issues:

- As a biological test the NIH method is highly variable, making this test inappropriate for batch-to-batch consistency analysis.

- A large number of mice is required.

- This test is time consuming and labor intensive for both the manufacturer and the authorities that release the batches. For all these reasons, regulators, experts and manufacturers are seeking an alternative method to the existing NIH test that guarantees the potency of the rabies vaccine to be administered for pre or post exposure vaccination. A recent international workshop of the NICEATM and ICCVAM was held in Ames, Iowa, USA on October 11-13th, 2011 on "Alternative Methods for Human and Veterinary Rabies Vaccine Testing" with particular focus on Rabies Vaccine Potency Testing. The main conclusions of this workshop were as follows:

- For inactivated veterinary rabies vaccines, the Serum Neutralization Test (SNT) serological method described in the Ph. Eur. Monograph 0451, should be immediately considered for product specific validation by vaccine manufacturers for both adjuvanted and non adjuvanted vaccines.

- As human rabies vaccines in some regions (e.g., U.S. and EU) are simpler products (non-adjuvanted, monovalent), manufacturers are encouraged to develop and implement an *in vitro* antigen quantification method to replace the mouse challenge test. *In vitro* antigen quantification methods currently used by rabies vaccine manufacturers as in-process tests include ELISA and Single Radial Immunodiffusion (SRID) Test.

- Final product *in vitro* methods will require identification and use of appropriate reagents (e.g. monoclonal antibody) with specificity for the neutralizing epitope of the virus-associated trimeric form of glycoprotein G.

- Validation of *in vitro* replacement tests will need to include identification of sub-potent lots. For validating *in vitro* methods for potency testing of human rabies vaccines, it may be necessary to compare *in vitro* results to adequate serological titers in humans. In the context of the Purified Vero Rabies Vaccine next generation (PVRV-NG) development, Sanofi Pasteur has set up an in-house ELISA test answering the need for an alternative method to the NIH potency test. The description of the corresponding ELISA method for rabies glycoprotein G quantification and the data supporting the alternative test, together with the proposed global strategy for implementing this ELISA test in replacement of the NIH test, will be presented.

CO.49

AN ELECTROCHEMILUMINESCENT ASSAY FOR ANALYSIS OF RABIES VIRUS GLYCOPROTEIN IN RABIES VACCINES

Smith TG¹, Ellison JA, Carson WC, Ma X, Rupprecht C – ¹Centers for Disease Control and Prevention

Vaccine potency testing is necessary to evaluate the immunogenicity of inactivated rabies virus (RABV) vaccine preparations before human or veterinary

application. Currently, the NIH test is recommended by the WHO expert committee to evaluate intra- and inter-lot variation of RABV vaccines; however, numerous disadvantages are inherent concerning cost, number of animals and biosafety requirements. As such, numerous *in vitro* methods (e.g. antigen-capture ELISA) have been proposed for the evaluation of vaccines based on RABV glycoprotein (G) quality and quantity which correlates with vaccine potency. In this study an antigen-capture electrochemiluminescent (ECL) assay was developed utilizing three murine anti-RABV G monoclonal antibodies (mAb) to quantify RABV G in two commercially available inactivated RABV vaccines, one experimental vaccine, and three purified RABV G preparations. The first mAb was specific for a conformational epitope so that only immunogenic, natively folded G was captured in the assay. Additionally, two mAbs that bind non-competing linear epitopes were employed to evaluate the overall quantity of native and denatured RABV G and for detection. Vaccine efficacy was also assessed *in vivo* using pre-exposure vaccination of mice followed by peripheral RABV infection. Purified G induced a virus neutralizing antibody (VNA) titer of 4.2 IU/ml and protected 100% of immunized mice; while, an experimental vaccine with low quality and quantity of G induced a VNA titer >0.03 IU/ml and only protected 21% of immunized mice. These preliminary results support the hypothesis that *in vivo* efficacy may be predicted from the *in vitro* measurement of RABV G using the ECL assay. Based upon these results, the ECL assay may have utility in measuring potency of RABV vaccines.

CO.50

ONRAB® EFFICACY IN SKUNKS (*Mephitis mephitis*) AND RACCOONS (*Procyon lotor*)

Knowles MK¹, Fehlner-Gardiner C¹, Beresford A², Rosatte R³ – ¹Canadian Food Inspection Agency – Centre of Expertise for Rabies, Ottawa, Canada, ²Artemis Technologies Inc., Guelph, Canada, ³Ontario Ministry of Natural Resources – Wildlife Research and Development, Peterborough, Canada

ONRAB®, a recombinant human adenovirus type 5 vector expressing rabies glycoprotein, has been used under experimental permit in the Canadian provinces of Ontario, New Brunswick and Quebec for wildlife rabies oral vaccination programs. Prior to its use in the field, a series of trials were conducted in two terrestrial wildlife vectors to determine the rabies virus neutralizing antibody response to ONRAB®. Eighty-three % of skunks (10/12) and 75% of raccoons (8/12) seroconverted within 6 weeks after consumption of ONRAB® in an Ultralite bait (ULB) at a dose of 109.2 TCID₅₀/ml in 1.8 mL. In the subsequent efficacy trial, all skunks (n=28) that consumed a single ONRAB®-ULB were protected from lethal rabies challenge, while 86% (12/14) of the unvaccinated controls succumbed to rabies. In addition, pre-existing neutralizing antibody to either canine adenovirus type 2 or human adenovirus type 5, achieved by intramuscular inoculation of skunks with the viruses 28 d prior to administration of ONRAB® *per os* at 108.4 TCID₅₀/ml, had no effect on the antibody response to ONRAB®. These series of experiments demonstrated that ONRAB®-ULB shows promise over previous vaccine/bait combinations as it elicited a measurable immunological response in both skunks and raccoons, and provided protection against experimental lethal rabies virus exposure in skunks. Further, results of these studies suggest that its field performance is unlikely to be affected by pre-existing immunity to other adenoviruses.

CO.51

PRODUCTION AND EVALUATION OF A CHROMATOGRAPHICALLY PURIFIED VERO CELL RABIES VACCINE (PVRV) IN CHINA USING MICROCARRIER TECHNOLOGY

Tang Q¹, Yu P¹, Huang Y¹, Zhang Y², Liang G¹ – ¹China CDC – Institute for Viral Disease Control and Prevention, ²Beijing, China – Liaoning Chengda Biology Co.

China is a high population country with millions of animal bite cases every year; thus, it is necessary to explore and develop more effective and productive rabies vaccines for human use. To establish a safe, effective, inexpensive and high-yield rabies vaccine, a non-adjuvant purified Vero cell rabies vaccine produced in the SPEEDA PVRV microcarrier bioreactor was developed by Liaoning Chengda Biology Co. Ltd. in China. This vaccine was produced using Vero cells that were cultured in a microcarrier bioreactor. A microcarrier bioreactor containing 25 g/L of Cytodex-1 was used for perfusion culture. The Vero cell culture density was up to 1.2–1.5 × 10⁷ cells/ml, viruses could be constantly harvested for 18–22 d, and the resulting vaccine immunizing potency was ≥ 4.5 IU/ml. Vaccine safety and immunogenicity post-immunization were also assessed. A total of 602 volunteers were enrolled and divided into two groups that were vaccinated with either SPEEDA PVRV or VERORAB PVRV on days 0, 3, 7, 14 and 28. All subjects vaccinated with SPEEDA PVRV showed no serious local or systemic adverse effects. The positive conversion rate of serum neutralizing antibodies against the rabies virus reached 100% in both the test and control groups (inoculated with VERORAB PVRV) at 14 d and 45 d after vaccination, and no significant difference was found between the neutralizing antibody geometric mean titers (GMTs) of the two groups. SPEEDA PVRV is appropriate for mass production and shows satisfactory clinical safety and immunogenicity for human post-exposure prophylaxis of rabies.

CO.52

SKUNK RABIES IN TEXAS; A RETROSPECTIVE LOOK

Abbott S¹, Mesenbrink B¹, Mapston M¹, Bodenchuk M¹, Oertli E² – ¹USDA-Wildlife Services, ²Texas Department of State Health Services

Skunk rabies in Texas, USA is ubiquitous, with the majority of the state within the range of the South-Central skunk rabies distribution. Statewide public health surveillance indicates a cyclic trend, with peaks in total skunk rabies cases approximately 22 years apart. We examined public health case-reports from 1960-2006 to identify trends, with the ultimate goal of developing a predictive model for skunk rabies epizootics. Cases were plotted by county, by year and certain trends were observed. Some counties regularly reported skunk rabies cases while many others reported no cases for several years. We also examined rainfall data from 4 representative counties to determine if there was a correlation between rainfall and skunk rabies cases. This paper presents the results of these investigations and presents opportunities for further investigations.

CO.53 POPULATION STRUCTURE OF TWO RABIES HOSTS IN ALASKA

Clement CJ, Himschoot E¹, Goldsmith EW¹, Hundertmark KJ¹, Hueffer K¹ – ¹University of Alaska Fairbanks

Rabies, is widespread in arctic and red foxes in Northern and Western Alaska, but not endemic in Interior Alaska. Areas with endemic rabies overlap with the habitat of the Arctic fox while regions solely inhabited by the red fox are considered free of endemic rabies. It is therefore not known if red foxes serve as competent long-term reservoirs for rabies or support only spill over infections. Three strains of rabies virus are present in Alaska with distinct geographic distribution. Furthermore climate change is expected to alter the distribution of these two species in Alaska, expanding the range of the red fox into the historic habitat of the arctic fox. We assessed the population structure of the two major hosts in Alaska, red and arctic foxes in the context of rabies strain distribution in Alaska. In contrast to previous studies on population structure of Arctic foxes in North America, we found significant structure in the population of arctic foxes, which correlates with the phylo-geographic distribution of rabies strains in Alaska. Red foxes also showed evidence of only limited gene flow between regions of Alaska.

CO.54 THE GERMAN RACCOON (*PROCYON LOTOR*) POPULATION AS POTENTIAL RABIES RESERVOIR SPECIES

Vos A¹, Finke S², Habla C¹, Freuling C², Teifke J², Köllner B², Müller T² – ¹IDT Biologika GmbH, ²Friedrich Loeffler Institute – Federal Research Institute for Animal Health

Until recently, the red fox (*Vulpes vulpes*) was considered the only reservoir species for terrestrial wildlife rabies in Europe. However, since the late 1980s another host species has emerged in North- and East Europe; the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*). Interestingly, several other potential rabies reservoir species occur in Europe but without evidence that these animals play any role in the spread of the disease; golden jackals (*Canis aureus*) in Southeast Europe, the small Indian mongoose (*Herpestes auropunctatus*) inhabiting parts of the Adriatic coastal region, and the raccoon (*Procyon lotor*) in most parts of Europe. Especially in (semi-) urban areas in Germany, extreme high raccoon population densities have been observed (approx. 100 animals/km²). To investigate the possibility that raccoons in Germany could become a reservoir species in case of re-emergence of rabies in Germany the susceptibility of the 'local' raccoon population was investigated. Wild caught animals were inoculated with the most likely lyssavirus variants to infect the German raccoon population. It was shown that the German raccoons were fully susceptible for a dog and raccoon rabies virus (RABV) variant. Five of 6 raccoons inoculated with a fox RABV isolate showed subsequently clinical signs. In contrast to foxes, none of the infected raccoons succumbed to rabies after infection with European Bat Lyssavirus Type 1 (EBLV-1); although all these raccoons seroconverted. The most likely event that a German raccoon will come in contact with a lyssavirus is through contact with an infected bat. It can therefore be a reassuring thought that based on the results of this study raccoons are highly refractory to EBLV-1 virus infection. The highest risk that the raccoon population will become infected with rabies is by re-emergence of this disease by accidental importation of dog rabies. Although the immediate risk may not seem high it must be stressed that no experience and no tools are readily available to control

a rabies outbreak among raccoons in Germany. The study was conducted as part of the Lyssavirus Research Network and sponsored by the German Federal Ministry of Education and Research (grant nr. 01KI1016A).

CO.55 RABIES CONTROL PROGRAMMES IN THE BALKAN REGION: ACHIEVEMENTS AND PERSPECTIVES IN MACEDONIA

Cliquet F¹, Mrenoski S², Davcheva K³, Kirandjiski T⁴, Nakova E⁴ – ¹Nancy laboratory for rabies and wildlife, France, ²Faculty of Veterinary Medicine in Skopje – Macedonia, ³Agriconsulting Europe SA – Macedonia, ⁴Food & Veterinary Agency – Macedonia

Through the Instrument and Pre-Accession Assistance, European Union provides funding to support the control and eradication of classical swine fever and rabies in seven candidate or potential candidate countries of the Western Balkans, where the main reservoir and vector of rabies is the red fox (*Vulpes vulpes*). Most of those countries have reinforced measures aiming to control the disease and have initiated oral vaccination programmes against rabies which started in Kosovo in spring 2010. The project was initiated in Macedonia in August 2010 and the first objective was to improve passive surveillance and reporting through enhancing public awareness about the risks of the disease and training for stakeholders. Macedonia is a 25,713 km² country bordered by four infected countries. In Macedonia, there had been no cases reported since 2000. The first oral vaccination campaigns were implemented in spring and autumn 2011 in the whole country using SADB19 vaccines and aerial distribution. The first case of rabies was detected in July 2011 on a fox in the centre of the country. Eight other cases have been reported in the centre, in the east and in the south parts of Macedonia. Several cases have been isolated at close proximity with Bulgaria and Greece, requiring the implementation of adequate measures in those countries. The last case was recorded in a cat in March 2012. The number of samples and of species analysed in 2011 was significantly increased compared to that of 2009 and 2010. This reflects a higher level of awareness of rabies among hunters, general public and professionals involved in rabies control activities as well as increased quality of the rabies surveillance and monitoring. The efficacy of the campaigns was assessed through monitoring healthy foxes (with active participation of hunters) in all vaccinated areas and revealed a very high percentage of bait uptake (estimated at 91%) and an rabies antibody response of foxes at 59%. The genetic characterization of eight strains isolated in Macedonia has been undertaken to identify rabies variants circulating in the country. The tested isolates were resolved in the East European group with a high nucleotide identity of the nucleoprotein gene found for all isolates, suggesting wildlife movements of rabies in the region. The multi annual rabies control programme will be shortly described (rabies surveillance network, planning, organisation, implementation and evaluation of the campaigns, laboratory investigations) as well as achievements done in the Balkan region. Perspectives for strengthening collaboration with the neighbouring countries for the next years will also be discussed.

CO.56 RESULTS OF THE FIRST ONRAB® SAFETY AND IMMUNOGENICITY FIELD TRIAL IN RACCOONS IN THE U.S.

Chipman R¹, Vercauteren K², Nelson K¹, Algeo T¹, Slate D¹ – ¹USDA, APHIS – Wildlife Services, ²USDA, APHIS, WS – National Wildlife Research Center

A safety and immunogenicity field trial to evaluate a live recombinant human adenovirus (serotype 5)-rabies glycoprotein vaccine (ONRAB®) in raccoons and skunks was conducted in the U.S. in 2011. Approximately 80,000 Ultralite baits (Artemis Technologies, Guelph, ON, CAN) were distributed at 75 baits/km² along 750m flight lines in 4, 127 km² study areas in southeastern West Virginia, U.S. The bait was composed of a small blister pack that contained the ONRAB® vaccine with a waxy coating matrix of attractants impregnated with tetracycline biomarker, and camouflaged by a green dye. No phone calls from human or pet bait contacts were reported through a toll-free phone number provided on each bait. Low human population density may largely account for no reported bait contacts. No tissue abnormalities were observed in captive cottontail rabbits, opossums, fox squirrels, eastern wild turkeys, and woodrats at a 10x ONRAB® dose, and field histopathology results should be available in December 2012. Rabies virus neutralizing antibody (RVNA) was higher among raccoons ($P < 0.05$) in post-ONRAB® samples (49.4%, $n=296$) than in naïve pre-ORV samples (9.6%, $n=395$). Biomarker was higher ($P < 0.05$), among post-ONRAB® raccoons sampled, an indication of vaccine-induced RVNAs. The 49.4% RVNA population level in raccoons is the highest observed in the U.S. for a first time oral rabies vaccine distribution event. Skunk sample size was inadequate to assess ONRAB® effects. Field trial results warranted replication and expansion in 2012 to assess raccoon population immunity from a second ONRAB® trial in four more states, including Ohio urbansuburban habitats. These collaborative trials, which will continue to bring together multiple disciplines from county, state, federal and international jurisdictions in the spirit of One Health, should provide a basis to determine if ONRAB® is suited to achieve raccoon rabies management goals.

CO.57 PREFERENCES OF SELECT ATTRACTANTS IN THE COATING OF ONRAB VACCINE BAITS BY RABIES RESERVOIR SPECIES

Johnson SR¹, Berentsen AR¹, Leland B², Oertli E³, VerCauteren K¹ – ¹USDA-APHISWS- National Wildlife Research Center, ²USDA-APHIS-Wildlife Services, ³Texas Department of State Health Services

Rabies control managers and researchers in the United States are assessing how the Canadian vaccine ONRAB® may perform if integrated into the United States oral rabies vaccination (ORV) program. A measurement of success of any ORV program is bait uptake by target species. The attractant used in the bait matrix surrounding a vaccine influences bait uptake and vaccination rate. Our objective is to determine which flavor of attractant in the ONRAB® coating is the most preferred by rabies reservoir species in the field. In Texas (TX) we are evaluating four attractants (sweet, fish, egg, and cheese) in areas inhabited by raccoons (*Procyon lotor*), skunks (*Mephitis mephitis*), foxes (*Urocyon cinereoargenteus*), and coyotes (*Canis latrans*). In Puerto Rico (PR), we are comparing the preference of mongoose (*Herpestes auropunctatus*) for cheese, coconut, and fish attractants. We monitored bait stations with animal-activated cameras and regular checks of bait status (untouched, disturbed, and removed). In TX, we offered 540 baits of which 102 were removed, with cheese and fish most often removed (both 25%) followed by egg (21%) and then sweet (15%) and unflavored controls (14%). Image scoring from camera data is underway. In PR, mongoose removed baits on 38 of 343 occasions. Though all data are not yet fully analyzed, it appears mongoose prefer cheese, followed closely by fish. Findings in both TX and PR are suggesting that sweet flavors are least attractive to rabies reservoir species. To confidently state which attractants will likely perform the best, we need to complete the analyses of these data and do more extensive trials, especially in raccoon habitat in the eastern United States.

CO.58 EVALUATION OF NON-TARGET ANIMAL EXPOSURE TO HUMAN ADENOVIRUS RECOMBINANT ORAL RABIES VACCINE- OHIO 2012

Wallace R¹, Blanton J¹, Vora N¹, Dyer J¹, Smith K¹, Chipman R², Rupprecht C¹ – ¹US Centers for Disease Control and Prevention, ²US Centers for Disease Control and Prevention

Oral Rabies Vaccination (ORV) is the primary management practice for controlling wildlife rabies in the United States, particularly among raccoons and foxes. Two ORV bait designs are primarily utilized for the distribution of vaccinia rabies glycoprotein (VRG) vaccine: a fish meal polymer block and a coated sachet. A primary public health concern related to ORV bait distribution is non-target contact between the ORV and humans and domestic pets. The VRG virus strain used in ORV is attenuated in mice, but human percutaneous exposure to ruptured sachets has resulted in localized vaccinia virus infection in very rare cases. Recently, a new recombinant human adenovirus ORV (AdRG) has been developed. This vaccine is incorporated in ultralight bait which has not previously been used in the United States. Surveillance for human contact is important, particularly among young children that may have contact with the bait, due to their lower prevalence of prior exposure and immunity to human adenoviruses. To evaluate potential differences in contact rates between the VRG and AdRG bait types CDC, the Ohio Department of Health, and USDA/WS will conduct an investigation during ORV baiting in Northeastern Ohio in August 2012. The focus of this investigation will be to ensure that public health programs are in place to capture events of human and domestic animal bait contact, ensure appropriate protocols are in place in case of a severe adverse event from a bait contact, and evaluate whether the AdRG vaccine bait matrix is associated with a different human detection rate compared to bait types used for distributing VRG. Updated guidelines related to appropriate management of potential contacts with AdRG baits during ORV activities may be developed based on findings from this investigation.

CO.59 MULTIDISCIPLINARY APPROACH TO EPIZOOTIOLOGY AND PATHOGENESIS OF BAT RABIES VIRUSES IN THE UNITED STATES

Ellison JA¹, Johnson SR², Kuzmina NK³, Gilbert AT³, Carson WC³, Blanton JD³, VerCauteren K², Rupprecht C³ – ¹Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA – Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, ²National Wildlife Research Center, United States Department of Agriculture – Wildlife Services, Fort Collins, Colorado, USA, ³CDC

Zoonotic disease surveillance is typically initiated after an animal pathogen has caused disease in humans. Early detection of potentially high-risk pathogens within animal hosts may facilitate medical interventions to cope with an emerging disease. To effectively spillover to a novel host, a pathogen may undergo genetic changes resulting in varying transmission potential in the new host and potentially to humans. *Rabies virus* (RABV) is one model pathogen to consider for studying the dynamics of emerging infectious diseases under both laboratory and field conditions. The evolutionary history of RABV is characterized by regularly documented spillover infections and a series of notable host-shifts. Within this context, enhanced field surveillance to improve detection of spillover infections will require validated techniques to non-invasively differentiate infected from non-infected individuals. In this

study we evaluate the use of infrared thermography to detect thermal changes associated with experimental RABV infection in big brown bats (*Eptesicus fuscus*) in a captive colony. Our results indicated that 62% of rabid bats had detectable facial temperature decreases (-4.6°C , SD ± 2.5), compared to pre-inoculation baseline values. These data suggest potential utility for discriminating rabid bats in natural field settings. In addition, focusing upon RABV circulating in the United States between 2008 – 2012, we confirmed spillover events of bat RABV among carnivores and identified cross-species transmission events caused by four lineages of RABV associated with insectivorous bats. This study provides a glimpse into RABV pathobiology and spillover dynamics among and between bats and a variety of mesocarnivores.

CO.60 KNOWLEDGE, ATTITUDES AND PRACTICES AMONG POPULATIONS EXPOSED TO BATS IN SOUTHERN NIGERIA

Osinubi MOV¹, Recuenco S¹, Kuzmin I¹, Haberling DL¹, Blau DM¹, Davis LB¹, Ehimiyein AM², Ogunkoya AB², Rupprecht C¹ – ¹Centers for Disease Control and Prevention – Division for High-Consequence Pathogens and Pathology, ²Ahmadu Bello University, Zaria – Veterinary Medicine

Among the currently recognized species in the *Lyssavirus* genus worldwide, all but one (Mokola virus) has been identified in bats. Recent discovery of emerging pathogens of zoonotic importance in bats raises concerns about health risks of populations that directly or indirectly come in contact with these diverse mammals. Idanre, an ancient city situated in Southwest Nigeria, conducts a unique bat festival twice annually, where the populations have traditional practices that involve capturing and consuming bats. These activities bring them into direct contact with bats that are important not only because of potential exposure to lyssaviruses, but also to other emerging pathogens. A knowledge, attitude and practices survey was developed and administered to investigate the potential risk of exposure to emerging diseases among these populations living around bat caves, as well as those who participate in the bat festival. Serum samples were collected from humans and bats in the study area, and were analyzed for lyssaviruses and other potential microorganisms. Participants (n=142) were recruited from 90 households in 5 different communities (4 rural and 1 urban). Participant ages ranged between 9 – 83 years. Twenty-one (28%) participants claimed to have participated in the bat festival and 15 (71%) participated twice a year. Of those that participated in the festival, 14 (67%) were involved in multiple activities: 14 (67%) reported involvement in bat preparation/consumption, 12 (75%) hunted bats, 4 (19%) sold bats, and 5 (24%) watched the events. Thirty (26%) study participants claimed to have entered a bat cave and 53 (50%) touched a live bat. Eighteen (18%) participants who reported direct contact with bats also reported scratches and 14 (15%) reported bat bites. Ninety-three participants (92%) made no attempt to protect their families from bat bites, while 5 (5%) prevented bats from entering the home, and 1 (1%) reported destroying bats entering the home. Only 10 (15%) participants claimed to have an extensive knowledge of rabies. However, 33 (53%) would do nothing if bitten or scratched by a bat. A total of 102 blood samples were collected from humans. Neutralization against rabies virus was detected in 3 (3%). There was no evidence of neutralization against non-rabies lyssaviruses. Among the 145 bat sera, seroprevalence of Lagos Bat Virus (LBV) antibodies was observed in *Rousettus aegyptiacus* (51%) and *Eidolon helvum* (24%) species. Some of the LBV-positive samples additionally neutralized Shimoni bat virus (SHIBV). Our results indicate an insufficient knowledge about rabies among the study population and an increased exposure through practices and attitudes towards bats, that maybe harboring unknown zoonotic

pathogens. This calls for plans to provide continuous surveillance of important pathogens of risk to human health, and the need to have preventive measures and response strategies in place to safe-guard human health.

CO.61 SPACE-TIME DYNAMICS OF ATTACKS BY HEMATOPHAGOUS BATS AND GEOGRAPHIC ACCESS TO HEALTH CARE IN A REGION OF MEXICO.

Zaldivar-Gomez A¹, Arteaga-Troncoso G², Velazquez-Quiroz IR³, Delgado-Urbina C¹, Ramirez-Hernandez MD¹, Jimenez-Estrada JM¹ – ¹Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de México-ISEM – Laboratorio de Rabia, ²Instituto Nacional de Perinatología, ³Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de México-ISEM – Laboratorio de Biología Molecular

The objective of this study was to estimate the spatial patterns in rates of aggression by vampire bats (*Desmodus rotundus*) and identify human populations with limited geographic access to medical service with post-exposure prophylaxis. METHOD: A set of points georeferenced with case reports of aggression by bats in humans was used to model the rates-adjusted of aggression against residents of local communities in the south of the State of Mexico. A continuous prediction area was constructed based on the rates of aggression from events during the year 2000 (outbreak of rabies cases in animals, and attacks to humans) and during the period 2001 to 2009 (stability in the frequency of cases) using a spatial interpolation method (Poisson-Kriging). The coverage areas of health services were calculated through a network analysis, estimating travel times (30 to 60 minutes) to the nearest hospital unit. Both estimates were integrated with risk maps. RESULTS: Two thousand one hundred ninety people of different sexes and ages were attacked by vampire bats in the region; 94.8% of attacks were recorded in the municipalities of Tejupilco and Luvianos. In 2000, there was an outbreak of rabies in animals, with an increase of 74.4% in the number of attacks (1629 recorded). During 2001-2009, the rate of aggression by gender showed a significant increase in women (58.6%) in contrast to men (41.4%). By age group, the highest percentage of attacks was from ages 1 to 19. By anatomical region more attacks were recorded in the upper extremities with 784 cases. Seasonal aggression was observed, with greater frequency in the months of April to August. Mapping was developed for both Poisson-Kriging model designs, a trend toward a higher rate of aggressions being observed in both models in the north-west, in the municipality of Luvianos. This distribution and seasonality is related to several factors such as: high production and marketing of livestock in the municipality, the physical and geographical conditions in the region that favor the survival of hematophagous bat, and socio-economic conditions with high level of social vulnerability and limited access to health services of basic levels. CONCLUSION: The Geographic Information Systems in Health provide a tool for geostatistical analysis, management and planning which is essential because it is possible to address the risk of aggression toward humans by vampire bats from a perspective which is spatial, systemic, multi-causal and interdisciplinary. Acknowledgements The authors wish to acknowledge to María Eugenia Jaimes from Comité de Fomento y Protección Pecuaria del Estado de México. Facultad de Geografía-UAEMex for his assistance with the creation of cartography. MD Gabriel O'shea Cuevas from Instituto de Salud del Estado de México.

CO.62**RABIES VIRUS MONITORING IN BATS FROM THE DIRECT AREA OF INFLUENCE OF HYDROELECTRIC POWER PLANT IN JIRAU, RONDÔNIA, BRAZIL**

Almeida MF¹, Rosa AR¹, Martorelli LFA¹, Kataoka APAG¹, Aires CC² – ¹Centro de Controle de Zoonoses-COVISA-PMSP, ²Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

In Rondônia State, North region of Brazil is being built at Madeira River, the hydroelectric power plant of Jirau. The implementation of huge enterprises such as the hydroelectric demands a series of alterations in the environment, such as vegetation suppression and movement of land in large extension along with other antropoc activities of high environmental impact. These activities can destroy the artificial and natural shelters for bats. Several studies have pointed an association between these environmental changes and outbreaks of rabies. Monitoring Jirau's bat population began in 2010 and it was made over a period of three years, with regular visits lasting 10 to 12 days, twice a year, totalizing six campaigns. First, the local population was interviewed aiming at eliciting what they knew about rabies and bats and to locate the shelters of these animals. In the period of three years, 158 people were interviewed, 4,387 bats were captured by mist net or active search and 3,852 of them were loose after this proceeding. Regarding to rabies, 535 bats and 486 sera were sent for diagnosis and antibodies dosage respectively at CCZ-SP by Direct Fluorescence and Simplified Fluorescence Inhibition Microtest. All bats were negative to rabies. The global prevalence of antibodies was 15.4% using 0,5IU/ml as a cut-off (0% in the first campaign, 2.8%, 6.4%, 19.2%, 14.8% and 36.3% in the subsequent campaigns). In the interview 93,5% declared to know the disease, however rabies was associate to dogs and just 52,5% knew that bats could transmit rabies. Regarding the type of houses, 93,5% were vulnerable to bats presence and bats were roosting in 70% of these houses. The results for rabies antibodies dosage showed a progressive increase for every subsequent campaign. As the first campaign was performed before the demolition of the houses and vegetation suppression in the direct area of influence of the hydroelectric, these results could be reflecting the perturbation inflicted to the population of bats such as the stress of the forced migration to search for new shelters and foraging areas as well as the disputes for space and food with the bats populations already established in the new shelters up to the moment when there is the reestablishing of the colonies. Considering just the presence of antibodies as indicative of the contact with the virus, the average of titers in the first and second campaigns was 0,03UI/ml and 0,04UI/ml while in subsequent campaigns this average was 0,21UI/ml, 0,49UI/ml, 0,24UI/ml and 0,38UI/ml, respectively. When statistically analyzed by Kruskal-Wallis ($H=1.611,942$; $p<0,0001$) and Dunn ($R_1=44.330$) these tests confirmed that there is significant difference in the results observed among the campaigns and the difference observed between the results of first campaign and subsequent campaigns is significant. These data indicate the increase of rabies virus circulation among these bat populations and suggest a potential risk of rabies outbreak that should be monitored.

CO.63**DELIMITAÇÃO DE ÁREAS DE CONTROLE NO ESTADO DE SÃO PAULO PARA A RAIVA DOS HERBÍVOROS NAS REGIÕES DA SERRA DA MANTIQUEIRA E CANASTRA**

Cavalcanti MP¹, Nogueira VS¹, Gomes MN¹ – ¹COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUARIA – SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

A progressão dos focos de raiva em herbívoros está associada às localizações dos abrigos de *Desmodus rotundus* que por sua vez, estão relacionados às principais feições geográficas de uma região. Muitos estudos consideraram elevadas altitudes, rios ou determinado tipo de cobertura da terra como fator protetor ou causal para difusão de epidemias. Geotecnologias foram utilizadas por Gomes et al (2011) para gerar um modelo descritivo com três camadas sobrepostas: a enfermidade caracterizada por uma função kernel dos focos de raiva entre 1992 e 2003, os tipos de uso e cobertura da terra obtidos por classificação de imagens de satélites e a altitude oriunda do radar SRTM. Segundo os autores, a enfermidade esteve fortemente moldada pelas áreas de vegetação rasteira (pastagens). O relevo formou os mosaicos de uso e cobertura da terra, o qual determinou os locais de grassamento ou não da enfermidade. Constataram-se regiões permeáveis de menores altitudes da Serra da Mantiqueira na divisa de estado com Minas Gerais que eram carreadores de casos, assim como, áreas delimitadas pela serra da Quebra Cangalha que divide horizontalmente o Vale do Paraíba. A análise temporal demonstrou que os focos tinham sentido do estado de Minas Gerais para o de São Paulo. Frente às constatações, a Coordenadoria de Defesa Agropecuária do estado de São Paulo (CDA) priorizou uma faixa na divisa estadual para realização de trabalhos de controle da enfermidade. Os locais relatados como carreadores também estão relacionados à introdução de novos casos. De certa forma, validando o primeiro modelo descritivo. Focos, agora identificados como pontos de coordenadas adquiridos por receptor de GPS entre os anos de 2008 e 2012, demonstram que o vale do rio Sapucaia e Sapucaia-Mirim proporcionam faixas de menores altitudes na Serra da Mantiqueira para introdução de raiva na Região de Bragança Paulista e São José dos Campos. A Serra da Mantiqueira, na região de Caconde e Cruzeiro, também possuem cortes de menores altitudes que possibilitam maior permeabilidade de focos. Por fim, na região da Serra da Canastra também ocorre tais formações de baixa altitude. Assim, estas análises descritivas sugerem que a CDA possa definir menores áreas de prioridade de controle da enfermidade, que delimitariam áreas específicas sentinelas e de controle de *Desmodus rotundus* nas faixas de menores altitudes nas serras aqui estudadas. Trabalhos conjuntos com o estado mineiro deveriam ser fomentados. Agradecimentos a Coordenadoria de Defesa Agropecuária e FAPESP projeto N° 03- 12319-o Gomes MN, Monteiro AMV, Escada MIS. Raiva bovina segundo os mosaicos de uso e cobertura da terra no estado de São Paulo entre 1992 e 2003. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 63, p. 287, 2011.

CO.64**APLICACIÓN DEL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS (M.I.P.) EN EL CONTROL DEL "DESMODUS ROTUNDUS" EN COSTA RICA**

Sancho VH¹ – ¹Senasa, Costa Rica – Rabia

Las pérdidas económicas en nuestra ganadería aumentan año con año por causa del *Desmodus rotundus* (murciélago hematófago) estimándose en \$800.000.00 por año. La principal enfermedad que transmite es la rabia paralítica bovina y la ecología de nuestro país hace propicia la multiplicación de este vector. De las 110 especies de murciélagos que existen en Costa Rica, solamente tres son hematófagos y generalmente los ganaderos no distinguen estas de las otras especies que tienen una gran importancia ecológica, por lo que eliminan ecosistemas enteros utilizando métodos equivocados en cuevas, troncos huecos y otros refugios, ya que por vivir en grupos numerosos son los animales más susceptibles a la extinción. El Programa Nacional de Rabia Paralítica Bovina del Ministerio de Agricultura y Ganadería lleva a cabo el control de este vector, tomando en cuenta el concepto de MIP (Manejo Integrado de

Plagas), el cual se concibe como un sistema de control que considera el medio ambiente en el que vive la plaga, su dinámica poblacional, previendo consecuencias ecológicas y económicas, seleccionando métodos de control para reducir las poblaciones por debajo del daño económico, de salud animal y salud pública. Por medio de una campaña de Educación Sanitaria que comprende mil quinientas charlas y demostraciones de métodos a más de quince mil ganaderos y estudiantes se ha logrado concientizar al productor ganadero para que no elimine las especies benéficas en sus fincas.

CO.65 SUSCEPTIBILITY OF *MYOTIS LUCIFUGUS* TO HETEROLOGOUS AND HOMOLOGOUS RABIES VIRUSES.

Davis AD¹, Jarvis J¹, Pouliott C¹, Morgan S², Rudd RJ¹ – ¹Wadsworth Center – Division of Infectious Diseases, ²State University of New York, Albany – Department of Ecology and Evolutionary Biology

Rabies virus (RV) maintenance in bats is not well understood. *Eptesicus fuscus*, *Myotis lucifugus*, and *Tadarida brasiliensis* are the most common bat species in the US. These colonial bat species also have the most frequent contact with humans and domestic animals. However, the *Lasiurus noctivagans*/*Perimyotis subflavus* (*Ln/Ps*) RV is associated with the majority of human rabies virus infections in the United States and Canada. This is of interest because the *L. noctivagans* and *P. subflavus* bat species are more solitary bats with less frequent human interaction. Our interest was to determine the likelihood of a colonial bat species becoming infected with and transmitting a heterologous RV. To determine the potential of heterologous RV infection in colonial bat species, *M. lucifugus* bats were inoculated with a homologous or one of two heterologous (*E. fuscus* and *L. noctivagans*) RV. Additionally, to determine if the route of exposure influenced the disease process, bats were inoculated either intramuscularly (i.m.) or subcutaneously (s.c.) with a homologous or heterologous RV. Bats were observed for 6 months. Survivors were challenged i.m. with a homologous RV and observed for an additional 6 months. Our results demonstrate intramuscular inoculation results in a more rapid progression of disease onset as compared to a significantly longer incubation time in bats inoculated s.c. Additionally, cross protection was not consistently achieved in bats previously inoculated with a heterologous RV following a six month challenge with a homologous RV. Finally, bats that developed rabies following s.c. inoculation were significantly more likely to shed virus in their saliva and demonstrated increased viral tissue tropism. In summary, bats inoculated via the s.c. route are more likely to shed virus thus increasing the potential for transmission.

CO.66 CDC'S GLOBAL DISEASE DETECTION PROGRAM AND THE INTERNATIONAL HEALTH REGULATIONS: PROVIDING EARLY WARNING TO CDC FOR HUMAN RABIES OUTBREAKS

Christian KA¹, Arthur RR¹ – ¹Centers for Disease Control and Prevention – Global Disease Detection and Emergency Response

In 2003, the spread of SARS alerted public health leaders that novel pathogens could be transmitted along international travel routes with unprecedented speed. With the realization that an outbreak anywhere in the world was a potential threat to virtually all countries, the United States Congress in 2004 authorized the appropriation of funds to establish a Global Disease Detection

(GDD) program, based at the CDC, with the aim of promptly detecting and mitigating the consequences of emerging threats. The GDD program provides a platform to develop and strengthen global capacity to rapidly detect, identify, and contain emerging infectious disease and bioterrorist threats in line with the International Health Regulations (IHR), which entered into force in June 2007 and legally requires all signatory nations to establish systems to detect and respond to new disease threats. The GDD program was subsequently selected by WHO as a key partner to help implement the IHR (2005) for its 194 member states and in 2009 was designated a WHO Collaborating Center for Implementation of IHR National Surveillance and Response Capacity. A significant component of GDD is the GDD Operations Center (GDDOC), an epidemic intelligence unit which uses novel, event-based surveillance techniques to provide CDC programs with a single source of reliable, comprehensive, and high quality information on international disease outbreaks, and provides logistical and financial support to CDC programs for emergency deployments to international outbreaks. Technological advances have revolutionized the way information is accessed, and event-based surveillance provides a mechanism for the organized and rapid collection and verification of information about events that are a risk to public health, particularly with regard to emerging zoonoses, which countries sometimes cannot or do not report to the global public health community. A re-emerging, global zoonosis that the GDDOC actively monitors is rabies in both animals and humans. Since 2009, the GDDOC has supported provided epidemiologic, logistical, or financial support to CDC's Rabies Program for emergency deployments to the Dominican Republic, Peru, Ecuador, and Kenya to mitigate outbreaks of human rabies associated with canine and vampire bat rabies. Because of the GDDOC's work to actively identify and report rabies-related event-based surveillance data to CDC's Rabies Program, CDC is better positioned to respond to a request for technical assistance by the affected country and establish core capacities in compliance with IHR.

CO.67 RESULTS WEBSITE FOR RABIES DIAGNOSTIC CONSULTATION INTO THE HEALTH SERVICES OF COAHUILA, MEXICO.

Fernandez MM¹, Solis MEP², Romero MAR², Aguilar AMB¹ – ¹Laboratory of Public Health Saltillo, Coahuila, México, ²Health Services of Coahuila

Background: Health Services of Coahuila had not a rabies diagnostic laboratory. It was needed to send samples to Nuevo Leon and InDRE to solve this limitation. On April, 2010, the State Authorities established this laboratory that is placed inside the facilities of the State Laboratory of Public Health. On July, 2010 the laboratory formalized operations with the InDRE. The laboratory has 2 employees: a professional diagnostics specialist and a laboratory technician. **Challenges:** Sample shipments for rabies virus monitoring to other states. Extemporaneous reception of other states results. No clear idea about rabies virus circulation and sanitary risk status in the State. Expensive operational costs. Several criteria of rabies PEP based on lab results. The laboratory had not a working algorithm for technical and epidemiological reports as well as for laboratory results. The lab had not a standard protocol to establish a timely diagnostic. **Alternatives of Solution:** To develop a feasibility study for the operation of a rabies diagnostic laboratory and to identify the mechanisms and support elements to establish this laboratory. Review the operative and financial plans and rabies vaccines availability for PEP. Website design for electronic consultation via Internet, to get the timely diagnostic according with the needs and request from the operative units. **Operation:** The Epidemiological surveillance of rabies in the State is

developed in three steps: the pre-analytic step is for the data collection and integration of the file with the support of the sanitary regions that send the samples that could be coming from bitten animals, for monitoring purposes and from wildlife. The Analytical step for the laboratory result and capture of the epidemiological info as well as the laboratory result in the website. Each case is identified with an ID key that could be reviewed by internet for each sanitary region. The post-analytic step is to follow up the results. This is developed by the sanitary regions to develop the recommended prevention and control measurements. All users have an ID key access that is individual and non-transferable, once it is approved by the State Authorities. The website has different access levels and just the rabies laboratory personnel have administrator level for capturing the initial info, modifications and corrections of each case. All the other users, administrative personnel of the central level and the operative personnel of the sanitary regions, have an ID key to consult the lab results. The author wants to thank to the State Authorities and the workforce of the Health Services in Coahuila for the support received for the elaboration and presentation of this paper.

CO.68

ANIMAL BITED AND HUMANE RABIES SURVEILLANCE IN IRAN

Shirzadi MR¹ – ¹ministry of health iran – zoonoses

Surveillance system of human rabies in Iran is working with the aim of having no human rabies and 100% access to health services for all the community. Further more, cooperation with veterinary organization and environment protection organization about vaccination of dogs and cats, sampling of suspicious animals and also training the staff and community and attending rabies national committee meetings is performing during the year. Iran has 31 provinces and 386 districts with a different weather condition as Mediterranean weather in the north of Iran and hot and dry weather in the south. As a result the dominant carnivores in the north and North West of Iran are wolves and in other areas of the country it's fox. However, in the whole country jackals are found frequently and have been considered as the reservoir of rabies in the nature. The health center in villages includes health houses with trained staff and in the next level there are rural health centers with a family physician. In the cities there are health posts in the first level and urban health centers in the next level which have physicians; and also there are hospitals in the districts. The complicated disease are referred from health houses and health posts to rural or urban health centers and in necessary to hospitals. In animal bite and rabies control program educational measures in control and prevention has been provided in all levels. In each district there is facilitated prevention and control center for human rabies in one of the urban or rural health centers or hospitals. More than 700 centers for control and prevention of human rabies are performing in 386 districts with 24-hour staff that had been trained about preventing treatment methods. If the cases of animal bite refer to health houses, health posts or health centers the lesion will be washed with water and soap for 15-20 minutes after registration of the patients and they will be referred to preventing treatment center for human rabies to start vaccination and serum therapy if needed. Further more the patients' information will be sent to the district health center to be declared to the preventing treatment center for the follow-up. If the cases of animal bite don't visit the preventing treatment center for rabies they are actively followed-up. In the district health center the information of the patients will be registered in the online portal reporting system. The online information can immediately be seen after registration by the province or national level. In the national level the national guideline for rabies surveillance had been published with cooperation of national rabies committee and they are distributed to all the health centers

and preventing treatment centers for rabies in Iran. Considering the national rabies committee decisions two types of vaccines including VERO and PCEC and specific human rabies serum are provided and distributed to all the preventing centers for rabies. Based on the table of information received from preventing treatment centers for rabies, in the year 2011 about 135095 cases of animal bite and 7 cases of rabied had been registered. Based on the national guideline of rabies two types of preventing treatment measures are conducted after animal bite which include 3-dose and 5-dose treatment. The rabies control program in Iran is successfully performing due to on time measures.

CO.69

TOWARDS HUMAN RABIES ELIMINATION IN EASTERN EUROPE AND MIDDLE EAST: CURRENT STATUS AND PROSPECTS

Vranjes N¹ – ¹PASTEUR INSTITUTE NOVI SAD, SERBIA, EUROPE – Epidemiology Department

Following the 1st Middle East and Eastern Europe Rabies Expert Bureau (MEEREB) meeting held in Turkey in 2010, the group of rabies experts from 8 participating countries met in June 2012 in Paris, France for the 2nd meeting, together with representatives from the Institute Pasteur and the Global Alliance for Rabies Control to discuss the rabies situation in their respective countries, its evolution, the problems encountered and the solutions. Human rabies, number of animal bites and post-exposure prophylaxis (PEP) administered are notifiable in all MEEREB countries however reliable rabies data in the region still remain scarce especially regarding human rabies reporting. This is even more pronounced in countries that are not part of the Rabies Bulletin Europe. Thanks however to MEEREB members' active participation, a clearer image of the rabies situation in the region is becoming more apparent. Some of MEEREB countries (Croatia and Serbia) have not recorded human deaths from rabies for more than 30 years. However, persistence of rabies in wildlife (foxes) requires constant surveillance and maintenance of a high level of vigilance and public health interventions in order to prevent human rabies cases. In other MEEREB countries rabies is present not only in wildlife but also in dogs, which increases the risk of transmission to humans. In fact, human cases still do occur in these countries. In countries where the incidence of human rabies did not exceed 0.15 per million inhabitants during the last 3 years, the incidence of reported bites and PEP remained stable. In the two countries where the incidence of human rabies is the highest, Kazakhstan and Georgia (0.38-0.52 and 0.67-1.37, respectively), the mean PEP incidence increase rate was of over 15%. In 2011, 0.4% of Kazakh population received PEP. In Georgia, PEP incidence reached 0.9% – the highest known PEP incidence in the world, and 2-50 fold higher than in other MEEREB countries. All MEEREB countries use cell culture vaccines through intramuscular administration. Rabies immunoglobulin (RIG) is locally produced in Croatia, Serbia, and Ukraine. MEEREB participants stated that human rabies transmitted by dogs can be and should be eliminated from the region and discussed requirements to conduct a successful rabies elimination program. Although in all MEEREB countries a legal framework for rabies control exists, most often rabies elimination is not considered as a public health priority. In addition, although some rabies control measures are already in place, there is still a significant disparity among the MEEREB countries as to each country's response to its rabies situation. Furthermore, some of the conditions for successful rabies elimination programs are not met. MEEREB members agreed that reinforced intersectional collaboration and "One Health approach" are the keys for successful rabies control.

CO.70**COMPARATIVO DE LA INVERSIÓN EN BIOLÓGICOS ANTIRRÁBICOS PARA LA PREVENCIÓN DE LA RABIA HUMANA TRANSMITIDA POR EL PERRO EN MÉXICO**

Vargas FP¹, Gutiérrez VC¹, Chávez IAF¹, Lezana MAF¹ – ¹Secretaría de Salud/México – CENAPRECE

En la eliminación de la rabia humana transmitida por el perro en México, los biológicos antirrábicos han sido elemento básico para alcanzarlo, por ello el gobierno federal ha destinado presupuesto para adquirirlos, gasto permanente desde 1990 a la fecha. A continuación se establece comparativo de la década de los 90's con el período del 2000, se utilizan indicadores de resultado (caso de rabia humana transmitida por el perro y caso de rabia canina) y de proceso (personas agredidas, tratamientos iniciados y perros vacunados contra la rabia), las cantidades de los biológicos antirrábicos adquiridos y utilizados (vacuna antirrábica humana, inmunoglobulina antirrábica humana y vacuna antirrábica canina) en dólares americanos y el efecto logrado con los siguientes resultados:

Casos de rabia humana transmitida por perro, en la década de los 90's se registraron 240 casos en 20 entidades federativas de las cuales cuatro aportaron el 49% del total, en contraste en el período del 2000 se notificaron cuatro casos en sólo dos entidades, se dejaron de presentar a partir de 2006. **Casos de rabia canina**, en la década de los 90's se acumularon 13 mil casos en 31 de las 32 entidades, en contraste se reduce para el período del 2000 a 921 casos en 23 entidades (decremento del 93.3%). **Personas agredidas**, en la década de los 90's se acumularon 947 mil personas agredidas por animal sospechoso de rabia con una tasa promedio de 106.2 agredidos por cada 100 mil habitantes, mientras que para el período del 2000 suman 1.2 millones de estas personas, con una tasa de 96.4 por cada 100 mil habitantes. **Personas que se indica vacunar**, en la década de los 90's se acumularon 334 mil personas que iniciaron tratamiento antirrábico (35.3%), mientras que para el período del 2000 lo iniciaron 378 mil (31.3%). **Vacuna antirrábica canina aplicada**, en la década de los 90's se aplicaron 101.3 millones de dosis a igual número de animales de compañía, mientras que para el período del 2000 se incrementó a 196.2 millones de dosis aplicadas (93.7% de aumento). **Vacuna antirrábica humana aplicada**, en la década de los 90's se utilizaron 1.4 millones de dosis que correspondió en tratamientos completos (cinco dosis) al 56.4% y el resto (44.6%) en incompletos (tres dosis en promedio), misma cifra aplicada en el período del 2000 pero se invierte el consumo en tratamientos completos 46.1% y en incompletos el 54.9%. **Inmunoglobulina antirrábica humana aplicada**, inicia su uso a partir de 1998 acumulando hasta el año pasado 385 mil frascos aplicados en 97 mil personas con agresión de riesgo grave. La inversión que hizo la Secretaría de Salud de 1990 a 2011 en estos biológicos fue de \$105.4 millones de USD, que comparado con el gasto que se dejó de aplicar en medidas de control de rabia canina en los casos que se evitaron en este período (92,028) estimado en \$225 millones de USD, representó economías para el país por \$120 millones de USD, lo cual justifica esta inversión en dichos biológicos.

CO.71**QUALITATIVE RISK MODEL TO ESTIMATE BOVINE RABIES OCCURRENCE IN BRAZIL**

Braga GB¹, Leite BM², Santos EFS³, Dias RA⁴ – ¹FMVZ-USP – Laboratório de Epidemiologia e Bioestatística, ²Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply – Animal Health Department, ³Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply – Animal Health Department, ⁴Faculty of Veterinary Medicine, University of Sao Paulo – Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health

Bovine rabies is still considered endemic in Brazil and despite the control efforts, the disease still spreads in an insidious way and the main vector is the vampire bat, *Desmodus rotundus*. This project aimed to create a predictive model to estimate the probability of bovine rabies outbreaks in each municipality of 21 out of 27 Brazilian States. The risk was estimated using concepts of receptivity and vulnerability. Questionnaires were sent to the Local Veterinary Units of each State and covered a number of questions related to the surveillance of possible risks, such as: bovine outbreaks, active roosts, bats positivity and spatial changes. The bovine density and geomorphologic features were obtained from national registries and geographic information systems. The risk results were compared with the 417 bovine outbreaks in 2010 distributed throughout the municipalities. Out of 5016 municipalities accessed, 217 (4.3%) were rated as having a high risk for the virus spread, 1277 (25.5%) as medium risk, 2045 (40.8%) as low risk, and 544 (10.8%) as negligible risk. In 933 (18.6%) cases the risk was unable to be determined because the lack of information. From 417 municipalities presenting herbivores outbreaks in 2010, 183 (43.9%) were rated as high risk, 196 (47.0%) as medium, 23 (5.5%) as low and in 15 (3.6%) the risk was not determined. The results showed that places with outbreaks were skewed towards areas with higher risk for the virus spread. In the future, these models could allow the targeting of efforts, adoption of control measures directed to certain locations, optimization of the control team's transit and a better understanding of rabies spread. Additionally, efforts need to be made to stimulate the continuous surveillance of risk and reduce areas with lack of information.

CO.72**OPTIMIZATION OF SPATIAL ACCESSIBILITY TO VACCINATION POINTS OF 2009 RABIES VACCINATION CAMPAIGN IN SAO PAULO CITY, BRAZIL**

Dias RA¹, Polo G¹, Guilloux AGA¹, Ferreira F¹, Amaku M¹ – ¹Universidade de São Paulo – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

São Paulo city has more than 2.5 million dogs and 560 thousand cats. These populations are distributed irregularly through the territory, making it difficult to allocate health services. One of the most important health interventions over the animal population is the vaccination against rabies, presumably responsible for the ending of the rabies epidemics in dogs and cats in 1983. The aim of this study is to evaluate the accessibility to vaccination points during the 2009 mass vaccination campaign. To achieve this, we used a two-step floating catchment area (2SFCA) method implemented in a geographic information system environment, under the hypothesis of optimal distribution of vaccination points to assure the potential use of the service by 100% of the target population. Areas with low accessibility were observed, especially in dense populated areas, for both dogs and cats. An algorithm to optimize the vaccination point location was created in order to improve accessibility, and scenarios with lower number of vaccination points were created. This methodology can be used to offer vaccination against rabies evenly to the entire population of animals, especially after the halt of this control strategy from 2010 and 2011. The model considered the same location of vaccination points for dogs and cats, when appropriate.

CO.73**RED COLLAR CAMPAIGN: HELPING TO CONTROL RABIES IN A HUMANE, EFFECTIVE AND SUSTAINABLE WAY.**

Gebara RR¹, Gamboa M², Quintero RM³, Hiby E⁴, Russell E⁴ – ¹WSPA- World Society for the Protection of Animals – WSPA Brasil, ²WSPA- World Society for the Protection of Animals – WSPA Mesoamérica, ³WSPA- World Society for the Protection of Animals – WSPA Suramérica, ⁴WSPA- World Society for the Protection of Animals – WSPA International

An estimated 55,000 people die of rabies every year¹, and 99% of these are caused by bites from rabid dogs.² The global economic burden of rabies is estimated to be 4,000M USD/year³. Mass dog culls are organized by governments in misguided attempts to control the disease and limit outbreaks however this approach has repeatedly been shown to be ineffective for rabies control⁴. These culls include gassing, shooting, electrocution, beating, and poisoning, cause the needless death of millions of dogs each year, furthermore such inhumane methods are condemned internationally⁵. Conversely, evidence shows that vaccinating at least 70% of a dog population annually creates a barrier of healthy immune dogs that stops the disease from spreading.² On World Rabies Day 2011, WSPA launched the Red Collar Campaign (RCC), which is a global campaign to end the inhumane culling of dogs in the fight against rabies. Our goal is to convince and assist governments to control rabies in an effective, humane, and sustainable way through mass vaccination without the inhumane culling of dogs. Latin America (LA) is an example of best practice in rabies control as it has been committed to dog vaccination since the 80's. Using this approach, dog rabies cases in LA declined from 25,000 in 1977 to 196 in 2011, a decrease of 99% and subsequently, human rabies also fell to only 15 in 2011, a decrease of 96%.⁶ Thus, mass vaccination of dogs has become an essential component in rabies control by halting disease spread, alongside pre and post-exposure prophylaxis, surveillance and informational campaigns. This commendable work reveals the importance of creating political will and provides inspiration to other regions to change their policy and practice. In 2008, a rabies outbreak occurred in the previously rabies-free island of Bali, Indonesia, leading to a widespread dog cull. In 2010, in response to this unnecessary killing, WSPA worked together with the Bali Animal Welfare Association (BAWA) and convinced Bali's government to stop killing dogs and implement the first islandwide mass dog vaccination, reaching 70% coverage and saving over 300,000 dogs from a needless death. During this vaccination period, human rabies cases decreased by 35%, and dog cases by 76%.⁶ The Disease Investigation Centre in Bali reports that people in Indonesia now believe in the power of vaccination and the systems and procedures developed during WSPA and BAWA's work in Bali are being adopted as national guidelines. In November 2011, WSPA supported the Bangladeshi government to carry out a pilot dog vaccination project in Cox's Bazar, vaccinating more than 70% of the dog population in two weeks. WSPA is now working with the Government to develop a national action plan for eliminating rabies through mass dog vaccination. WSPA's RCC has continued to gather global momentum since these successes, providing further evidence for the contribution of positive animal welfare to human health. 1. Knobel, D.L. et al. Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *Bulletin of the World Health Organization* 83, 360-368 (2005) 2. World Health Organization *Rabies Fact sheet No.99*, updated Sept 2010. Accessed July 2012 www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/ 3. Hampson K et al. Reassessment of the Global Burden of Canine Rabies: Human & Animal Costs. Presented by S Cleaveland to OIE Global Conference on Rabies Control: Towards sustainable prevention at source, 7-9 September 2011. Accessed July 2012 www.oie.int/eng/A_RABIES/presentations_rage/S3-1%20SocioeconomicBurden_DrHampson.pdf 4. WHO (2005) Expert consultation on rabies: First report. Technical Report Series 931 Geneva: WHO 5. World

Organisation for Animal Health (OIE), Terrestrial Animal Health Code chapter 7.7 Stray dog control. Accessed July 2012 http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_1.7.7.htm 6. Tamayo HS. Elimination of human rabies transmitted by dogs in the Americas: Achievements. Presentation to OIE Global Conference on Rabies Control: Towards sustainable prevention at source, 7-9 September 2011. Accessed July 2012 www.oie.int/eng/A_RABIES/presentations_rage/S1-5%20CaseReport%20America_DrTamayo.pdf 7. World Society for Protection of Animals (WSPA). *Case study- Rabies control: Dog welfare and disease prevention*, 2012. Accessed July 2012 www.wspainternational.org/red-collar/case-studies/default.aspx

PT.001**IN VITRO AND IN VIVO INHIBITION OF RABIES VIRUS REPLICATION BY RNA INTERFERENCE.**

Ono EAD¹, Iamamoto K², Castilho JG², Carnieli Jr P², Oliveira RN², Achkar SM², Carrieri ML², Kotait I², Brandão PE¹ – ¹Universidade de São Paulo – Medicina Preventiva e Saúde Animal, ²Instituto Pasteur de São Paulo

Rabies is a zoonotic disease that affects all mammals and leads to more than 55,000 human deaths every year³, caused by rabies virus (RABV) (Mononegavirales: Rhabdoviridae: Lyssavirus). The search for antivirals against rabies is one of the frontiers in the field but, despite a protocol (the Milwaukee Protocol) based on ketamin, ribavirin, midazolam and amantadin was successful after the treatment of a human patient,⁴ it was shown as not reproducible. RNA interference is an alternative as antiviral technology against RABV already shown as effective in vitro in cell cultures^{1,2}, but no reports on its in vivo use exist hitherto. The aim of this study was to assess the decrease in the titer of rabies virus both in vitro and in vivo using short-interfering RNAs. To this end, three siRNAs were used with antisense strands complementary to rabies virus nucleoprotein (N) mRNA. BHK-21 cells monolayers were infected with 1,000 to 0.1 TCID₅₀ of PV and after 2 hours the cells were transfected with each of three RNAs in separate using Lipofectamine-2000™. All three siRNAs reduced the titer of PV strain in a least 0.72 logTCID₅₀/ml and no cytotoxic effect was observed in the monolayers treated with Lipofectamine-2000™. Swiss albino mice infected with 10.000 to 1LD of PV strain by the intracerebral route were also transfected after two hours of infection with a pool 3 siRNAs with Lipofectamine-2000™ by the intracerebral route, resulting in a survival rate of 30% in mice inoculated with 100 LD₅₀, while the same dose led to 100% mortality in untreated animals. Lipofectamine-2000™ showed no toxic effect in control mice. These results suggest that intracerebral administration of siRNAs might be an effective antiviral strategy for rabies. The authors are grateful to FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), Grant # 2008/51519-8, and Pasteur Institute of São Paulo for the financial support. **References** 1.Brandão PE et al. Short-interfering RNAs as antivirals against rabies. *BJID*, v. 11, p. 224, 2007. 2. Israsena N et al. Inhibition of rabies virus replication by multiple artificial microRNAs. *A Res*; v. 84, n. 1, p. 76, 2009. 3. WHO Expert consultation on rabies, p.2, 2005. 4. Willoughby Jr et al. Survival after treatment of rabies with induction of coma. *New England Journal of Medicine*, v. 352, n. 24, p. 2508, 2005

PT.002

AGRESSÕES DE *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) EM ANIMAIS DOMÉSTICOS PRÓXIMOS A ÁREA URBANA DA ILHA DE SÃO LUÍS/MARANHÃO/BRASILArruda RCN^{1,2,3,4} – ¹MAPA – SFA-MA, ²Santos EFS – Coordenação MAPA, ³Falcão MA, – AGED-MA, ⁴Gualter PP – AGED-MA

Agressões de *Desmodus rotundus* em animais são acontecimentos comuns no Maranhão, como no Brasil, com a diferença que nesse Estado ainda há agressões em humanos e houve transmissão do vírus da raiva, como ocorrido em 24 pessoas no ano de 2005. O objetivo do presente estudo foi chamar a atenção à presença de *D. rotundus* próximo a humanos em área urbana de São Luís/MA, mostrar opção de monitoramento de área de forrageamento através anilhamento de morcegos, como também, identificar características importantes nos indivíduos para avaliações e reavaliações. Executou-se a armação de redes em curral, caracterizado o sentido Leste-Oeste em relação nascimento e pôr-do-sol num croqui o que facilitaria no direcionamento de possíveis abrigos dos *D. rotundus*. Dos morcegos capturados, mediu-se em milímetros o antebraço direito com paquímetro de plástico, o peso em grama foi determinado por um dinamômetro (100g). As anilhas de 4mm de diâmetro numeradas foram colocadas no antebraço do morcego mensurado com objetivo de novos monitoramentos. Observou-se a ossificação das epífises das falanges das asas, que nos indivíduos jovens são mais maleáveis, e nos adultos os ossos estavam melhor calcificados. O estado reprodutivo foi avaliado de forma visual e leve palpação, nas fêmeas com um volume maior no abdômen e nos machos quando os testículos estavam na bolsa escrotal. No controle dos espécimes, efetuou-se a aplicação da pasta vampiricida (warfarina a 2%) no dorso dos morcegos, por volta das 24 h quando havia se encerrado as capturas e recolhidas todas rede em volta do curral. Foram capturados 5 indivíduos, sendo todos da família Phyllostomidae, mas de espécies diferentes, um frugívoro (*Artibeus*), três hematófagos (*Desmodus*) e um nectarívoro (*Glossophaga*), este último não foi colocado anel, já que não era já específico para o seu tamanho diminuto. Observou-se que os *D. rotundus* foram pegos depois da 21:17h, indicando que onde há a presença humana a alimentação dos indivíduos pode acontecer mais tardiamente, devido ao ambiente mais calmo. As chegadas ou entradas dos morcegos hematófagos aconteceram pelo Norte, essas 'rotas de voo dos vampiros' indicam possivelmente as localizações de abrigos. A presença de uma fêmea de *D. rotundus* prenha e um macho escrotado indicava que as colônias estão em plena atividade sexual. Com o presente trabalho foi possível concluir que a presença de *D. rotundus* próximo a humanos é um risco que deve ser mitigado. O anilhamento é uma forma de garantir o monitoramento de morcegos em vários estágios da vida, sendo extremamente importante anotar todos os dados em fichas apropriadas para saber a evolução da eficiência do tratamento efetuado, bem como o croqui da área, para conhecer possíveis abrigos através da captura na fonte de alimentação, e os dados biológicos dos morcegos, para identificar e/ou acompanhar indivíduos, reprodução, testes laboratoriais, e observar a evolução de anticorpos da raiva, de tempo em tempo, para melhor avaliar riscos. **Palavras-chaves:** anilhas, encefalite, raiva, herbívoros, mitigação de risco e quirópteros. 1 Fiscal Federal Agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) 2 Fiscal Estadual Agropecuário da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão (AGED-MA /BRASIL).

PT.003

DIAGNÓSTICO SITUACIONAL DA RAIVA ANIMAL NO ESTADO DO RIO DE JANEIROMeneguete PS¹ – ¹Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro – Coordenação de Vigilância Ambiental em Saúde e Saúde do Trabalhador

O Estado do Rio de Janeiro está localizado na Região Sudeste, com uma população de 15.856.915 habitantes, segundo estimativa do IBGE, com uma densidade demográfica de 43.696,054 KM². Possui 92 municípios distribuídos em 9 regiões (Metropolitana I, Metropolitana II, Baixada Litorânea, Médio Paraíba, Centro Sul, Serrana, Baía de Ilha Grande, Norte e Noroeste Fluminense), limitando-se ao Norte com o Estado de Minas Gerais, ao Sul São Paulo e a Noroeste com o Espírito Santo. Em nosso Estado o Programa Estadual de Prevenção da Raiva iniciou a campanha de vacinação animal no ano de 1983, o que determinou a diminuição significativa dos casos de raiva em cães e gatos e como consequência a redução de casos em humanos. Após 21 anos sem ocorrência de caso de raiva humana no Estado do Rio de Janeiro, foi confirmado um caso em dezembro de 2006 no município de São José do Vale do Rio Preto devido a acidente com morcego. As ações de controle representadas pela cobertura vacinal, atingindo índices maiores do que 90% da população estimada canina e felina entre 1990 e 2009 contribuíram para a obtenção de resultados satisfatórios. No ano de 2010, houve uma estimativa de vacinar aproximadamente 2.500.000 animais. Porém, após a ocorrência de eventos adversos nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, o Ministério da Saúde, baseado nos resultados encontrados nas avaliações laboratoriais de algumas a partidas e dos estudos epidemiológicos efetuados, decidiu pela suspensão definitiva do seu uso na rede pública de Saúde, ficando o Estado sem cobertura vacinal desde então. Nos últimos anos a ocorrência de raiva no Estado do RJ está restrita a animais da área rural: bovinos, eqüinos e morcegos. Não temos ocorrência de raiva em cães e gatos desde 2002, indicativos que as campanhas de vacinação antirrábica em cães e gatos no Estado do Rio de Janeiro têm atingindo o objetivo proposto. No Estado do Rio de Janeiro, entre os anos de 2007 e 2010 foram confirmados 170 casos de raiva positivos em bovinos, 40 em eqüinos, 14 em morcegos não hematófagos e 03 em morcegos hematófagos e 04 outros. Dos 98 casos confirmados no Estado em 2011, 13 % ocorreram no município do Rio de Janeiro e 12% em Valença (Região Metropolitana e Médio Paraíba, respectivamente). Os que casos positivos vêm aumentando ano a ano, notadamente em animais que não bovinos, e que apenas uma pequena parcela é captada pelos serviços de vigilância.

PT.004

COMPLETE GENOME SEQUENCE ANALYSIS OF FIVE RUSSIAN RABIES VIRUS FIELD ISOLATESChupin S¹, Chernyshova E¹, Metlin A¹ – ¹Federal Centre for Animal Health

Five complete genomes of Russian rabies virus field isolates have been sequenced. These isolates were collected from different regions of European part of Russia. The genome lengths were 11923 nt (3 isolates), 11927 nt (1 isolate) and 11914 nt (1 isolate). All genomes retained basic genetic features characteristic for genotype 1 lyssaviruses. Four isolates were genetically close to European lineage of rabies virus and shared 93,4- 95,1% nucleotide identity with strain 9147FRA from France comparing complete genomes. One isolate from reindeer was genetically close to Arctic lineage of rabies virus and shared 99,7% nucleotide identity with strain A0906 from Alaska comparing gene N sequences. This is the first sequenced complete genome of Arctic lineage rabies virus. Furthermore to our knowledge this is the first proven case of Arctic lineage rabies virus distribution in Europe.

PT.005**EFFECTIVENESS OF PARENTERAL VACCINATION OF STRAY DOGS AGAINST RABIES TO REDUCE THE INCIDENCE OF HUMAN RABIES DEATHS DUE TO STRAY DOG BITES.**

Jayasundara VK¹ – ¹Dehiwala Mt. Lavinia Municipal council Sri Lanka – Health

Rabies is one of the notifiable zoonoses in Sri Lanka. 96% of human rabies deaths occur due to dog bites. The dog is the main reservoir and the transmitter of the disease in the community. In Sri Lanka, vaccination as a prophylactic measure to control canine rabies was practiced only for domestic dogs till 2006. Elimination was the main control measure for stray dogs during this period. The new strategy of mass parenteral vaccination of stray dogs in addition to the domestic dogs, instead of stray dog elimination, has been implemented by the health authorities of Sri Lanka after 2007. Apart from that, chemical and surgical birth control methods also were introduced to control the stray dog population density since 2007. An Autoplunger, a newly invented instrument in Sri Lanka was utilized for intramuscular vaccination of stray dogs. The main objective of this study was to find out the effectiveness of mass vaccination of stray dogs against rabies as a prophylactic measure to reduce the incidence of human rabies deaths due to stray dogs in Sri Lanka. The data obtained from quarterly bulletins of the department of epidemiology and the department of the public health and veterinary services of the ministry of health between 2007 and 2010 were analyzed. The data revealed the incidence of human deaths due to stray dog bites has increased from 16 in 2001 to 28 in 2006 whereas the incidence has decreased from 21 in 2007 to 18 in 2010. The total number of female stray dogs subjected to chemical birth control were 90380, 85339, 53931 and 39888 in 2007, 2008, 2009 and 2010 respectively. Total number of female stray dogs surgically sterilized were 1848, 119546, 220280 and 90764 for these corresponding years. It has been reported that some provinces have not carried out proper vaccination and population control measures on stray dogs due to various issues in 2010 compared to 2009. The statistical analysis revealed a weak negative correlation ($r = 0.27$, $R^2 = 0.072$) between the mass vaccination of stray dogs against Rabies and the incidence of human rabies deaths due to stray dog bites. However, the mass vaccination of stray dogs against rabies helps to establish herd immunity in stray dog reservoir and its feedback effect helps to arrest the transmission chain of virus among stray dogs. Therefore in conclusion, mass vaccination of stray dogs makes the public less susceptible for rabies due to stray dogs. Further strengthening of annual mass vaccination of stray dogs and population control measures to a greater extent in a methodical way at provincial level in future is recommended. This on-going national vaccination programme is funded by Health Ministry of Sri Lanka. My study was not funded. Key words: Stray Dog, Human Rabies, Mass vaccination

PT.006**CONTROLE DE *Desmodus rotundus* E EDUCAÇÃO SANITÁRIA EM PEQUENAS COMUNIDADES DA BAIXADA MARANHENSE – BRASIL**

Santana SS¹ – ¹Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão-AGED-MA – Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros e Outras Encefalopatias

Este trabalho teve o objetivo de traçar o perfil dos ataques de vampiros em pessoas e semoventes na Baixada Maranhense (região alagada), controlar a população de *Desmodus rotundus*, bem como, mostrar que a educação sanitária é uma possibilidade de transformação de comportamento dos indivíduos

avaliados. Na região estudada, as áreas mais altas onde os animais se alimentam durante o período das cheias, são denominadas pelos populares de 'Teso', no período das secas os servidores da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED-MA), atenderam demanda de espoliações em animais e humanos em dois povoados a 2 km entre si. No total foram visitadas 48 casas, sendo 35 em Frades e 13 no povoado Teso da Tapera. Há histórico de abertura de novas áreas dentro de remanentes de matas que estariam próximas aos povoados em estudo. Nas comunidades agredidas foram realizadas palestras sobre *Raiva Humana e Animal e Bioecologia de Morcegos Hematófagos* para 86 pessoas em 3 ocasiões distintas. Realizou-se um questionário para avaliar o sistema de criação de animais e mordeduras do *Desmodus rotundus*. Pela análise dos resultados, observou-se que 13 humanos foram agredidos, dentro de uma população de 198 pessoas, uma criança (0,50%) e 12 outras adultas (6,06%), perfazendo um total de 7% da população exposta. As crianças dormem quase sempre protegidas com mosquiteiros. Da localização das espoliações nos humanos, 92,30% foram nos pés, indicando que as pessoas que dormem em redes, ficam com as extremidades inferiores estão mais vulneráveis a ataque de vampiros e 81% das pessoas entrevistadas não tinham esclarecimentos necessários a respeito da raiva. A maior frequência de mordeduras em pessoas aconteceram num período de 4 meses (92,30%), entre os meses de agosto e outubro e o restante a no máximo 1 ano. Indicando que as agressões podem ter ocorrido em função do desmatamento de áreas próximas aos povoados e no período do deslocamento de animais para outras áreas. Todas as pessoas agredidas, só procuram o serviço de saúde para tratamento preventivo após a primeira palestra, demonstrando a importância da educação sanitária em áreas de risco para raiva. Pela ausência de casos clínicos, observa-se que a população de morcegos hematófagos não estava enferma com vírus rábico. Das pessoas envolvidas em entrevista, (20,87%) delas descreveram como abrigos, ocos de árvore e bueiros na Ferrovia Carajás. Verificou-se que dentre 47 criadores, 51,6% destes deixavam os seus animais soltos no período, e os que ficavam próximos as residências seriam um atrativo aos morcegos. No período analisado, observou-se que apesar de haver animais nas redondezas, os *D. rotundus*, tinham preferências por alimentar-se de sangue humano. Com base nas elucidaciones de campo, sistema de criação e características da área, conclui-se que há muitos abrigos ao longo da Ferrovia Carajás que corta os municípios do Estado e poucos nos campos alagados; as moradias mesmo sendo de alvenaria, não possuem forros ou outro tipo de proteção impedindo a entrada dos hematófagos; no regime de criação dos animais na baixada, na estação chuvosa os médios e/ou grande animais estão próximo às residências e no período mais seco são criados soltos, os morcegos não acompanham essa movimentação; o controle de morcegos hematófagos e a educação sanitária são medidas de fácil visualização e convencimento em comunidades; facilmente o homem pode se tornar uma fonte de alimentação alternativa em áreas onde houve alterações de ambiente, movimentação ou morte de animais e não há circulação viral na área já que o resultado do diagnóstico laboratorial foi negativo para raiva e não houve casos da enfermidade. **Palavras-Chave:** Raiva, Educação Sanitária, *Desmodus rotundus* e Baixada Maranhense.

¹Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão – AGED/MA. São Luís- MA/Brasil ²Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. São Luís-MA/Brasil

PT.007**PHYLOGENETIC RELATION AMONG BOVINE RABIES CASES FROM MINAS GERAIS AND SAO PAULO STATES, BRAZIL: A POSSIBLE COMMON ORIGIN**

Garcia AIE¹, Silva SOS¹, Peixoto H¹, Brandão PE¹, Cunha EM², Richtzenhain L¹ – ¹FMVZ USP – Veterinary Preventive Medicine and Animal Health, ²Instituto Biológico de São Paulo – Laboratory of Rabies and Viral Encephalitis

Bovine rabies transmitted by hematophagous bat *Desmodus rotundus* has represented a public health challenge and an economical burden to livestock industry of Brazil since 1911, when the first rabies outbreak in this species was officially documented in the south of the country. Several studies revealed temporal and spatial patterns of endemic presentation alternating with epidemic periods. Last registered epizootics occurred between 1997 and 2002, in Sao Paulo affecting bovines and equines near the border of Minas Gerais. The objective of the present research is to perform a phylogenetic analysis of rabies cases in livestock from Minas Gerais municipalities next to Sao Paulo's epizootic area in the subsequent period (from 2000 to 2009) and try to associate molecular data to geographical and ecological factors. 32 partial DNA sequences were obtained corresponding to rabies external glycoprotein (540 nucleotides of length). To infer genetic relations among virus isolates were performed analysis applying Neighbor- Joining algorithm and Kimura 2 parameter evolution model with 1000 bootstrap repetitions. The proposed phylogeny presented here is in agreement with a previous work (Carnieli, virus research, v 144, p 215, 2009) which prompts the presence of three main sub lineages in the Sao Paulo's epizootic area, near to the frontier with Minas Gerais: "Old Strain", RD1 and RD2/RD3. The old Strain is composed by isolates previous to 1998. The strain RD1 is integrated by viruses isolated after 1998 and has a different genetic origin. Lineage RD2/RD3 has subtle genetic difference when compared to RD1 even though they emerged in the same period of time and also have an overlapping pattern of geographic distribution. All samples from Minas Gerais analysed in this research were classified as RD2/RD3. This genetic sub-lineage is located along the border between the two states, mainly over the lowest portions of Serra da Mantiqueira mountain. This genetic sub-lineage is slightly divergent from rabies isolates from the rest of the country and is possible to differentiate it among rabies viruses from inner municipalities of São Paulo (far from epizootic area), even from older isolates involved in previous epidemic waves as the old and RD1 Strain. Molecular analysis suggests a possible involvement of *Artibeus lituratus* in the rabies cycle from inner municipalities of São Paulo state. Geographic analysis showed that the cases were mainly distributed in the Mata Atlântica biome and along the rivers: Pardo, Mogi-Guaçu, Piracicaba/Jaguari and Grande. Molecular analysis suggests that rabies virus circulating in bovines from south of Minas Gerais between 2000 to 2009 is genetically indistinguishable from one of the genetic strains involved in the last epizootics registered in Sao Paulo from 1997 to 2002, called here as RD2/RD3. Acknowledgements: CAPES, FAPESP process number 2011/06236-0

PT.008**AVANCE DE LA RABIA BOVINA EN EL ESTADO SAN LUIS POTOSI (MEXICO)**

Camacho J¹ – ¹SERVICIOS DE SALUD DE SAN LUIS POTOSI – ZONOSIS

Los casos comenzaron en el año de 1992, hasta 1999 cuando aun no existía en el país la caracterización antigénica. Se analizaron 30 muestras resultando

17 positivas con 11 municipios afectados, 8 cercanos a la capital del estado incluyendo La misma y solo 3 fueron de la zona huasteca, se infiere que los 8 casos de los municipios cercanos a la capital del edo. Fueron causados por caninos ya que se presentaban en promedio 40 casos anuales en perros . esto reforzado por que ya no se presentaron más casos al controlarse la rabia canina en 1996. Los 3 de la zona huasteca se sospecha que ya iniciaba el problema de los casos originados por Murciélago Vampiro. En el periodo 2000-2011 se procesaron 1039 muestras con 625 positivas ya caracterizándose 471 de ellas. inicio un brote en la zona huasteca: de 3 municipios afectados se incrementó en promedio anual 2.6 los municipios afectados, para hacer un total en el estado de 41 desde 1992. observándose el avance constante de los casos hacia el centro del estado y muy probablemente a los estados vecinos, por falta de medidas preventivas como la vacunación al ganado, observándose ya afectaciones a otros animales de interés Económico como Equinos, Caprinos, ovinos y a fauna Silvestre como mustélidos. Existiendo la latencia de un probable ataque y transmisión a los seres humanos. La principal variante antigénica que se ha encontrado es la V₁₁ en menor proporción es la V₃ y V₅.

PT.009**ESTUDO DO MANUAL DE NORMAS TÉCNICAS DO TRATAMENTO PROFILÁTICO ANTIRRÁBICO HUMANO PARA PROFISSIONAIS DA 15ª CRES – CRATEÚS/CE, 2010.**

Dennis DFCM¹ – ¹15ª Coordenadoria Regional de Saúde Crateús

A raiva é uma doença infecciosa aguda, caracterizada por um quadro neurológico, que evolui para óbito em poucos dias. Apresenta dois ciclos básicos de transmissão: o urbano, cujos principais reservatórios são os cães e gatos, e o silvestre, que ocorre principalmente entre morcegos, macacos e raposas, com destaque para o sagui no Estado do Ceará. Essa doença é de extrema importância para saúde pública, devido a sua letalidade de aproximadamente 100%. O diagnóstico laboratorial da raiva é de fundamental importância para o tratamento profilático humano pós-exposição, mediante a aplicação de imunobiológicos específicos, e para a adoção de medidas que visam o controle da doença. O objetivo deste trabalho foi realizar estudo do manual de normas técnicas do tratamento profilático antirrábico humano com profissionais de saúde no universo dos 11 municípios que compõem a 15ª CRES – Crateús. A partir desta ação foi realizado estudo quantitativo descritivo, baseado no Art.6º, inciso III da lei Nº 8.080/90, que inclui no campo de atuação do SUS a ordenação da formação de recursos humanos na área de saúde. Durante os meses de outubro e novembro do ano de 2010, foram realizadas 05 oficinas, sendo dois médicos veterinários do NUVET/SESA e um da 15ª CRES Crateús os facilitadores, e foram capacitados 42 enfermeiros, 12 médicos, 05 agentes de imunização, 03 coordenadores de vigilância sanitária, 08 veterinários e 09 agentes de controle de endemias. Tratar pessoas agredidas por animais é atividade rotineira das equipes de Atenção Básica / Estratégia Saúde da Família e da Vigilância em Saúde que devem ser desenvolvidas visando tornar viáveis os princípios e diretrizes de acesso universal e da integralidade do cuidado conforme a necessidade de saúde utilizando a epidemiologia para o estabelecimento de prioridades. Concluímos que a difusão de informações relativas ao processo saúde-doença, as doenças e suas formas de prevenção e controle proporcionam um melhor conhecimento sobre os fatores condicionantes e a situação de saúde. Capacitar profissionais que trabalham em diferentes setores da saúde favorece a definição de prioridades, a elaboração e na manutenção das ações de controle de agravos a serem desenvolvidas de acordo com as suas especificidades.

PT.010**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO NA PROFILAXIA DA RAIVA NA 15ª CRES – CRATEÚS/CE, NOS ANOS DE 2009, 2010 e 2011.**Dennis DFCM¹ – ^{115ª} Coordenadoria Regional de Saúde Crateús

As mordeduras causadas por animais são motivo de grande preocupação devido a possibilidade de transmissão de zoonoses, principalmente raiva. Este estudo descritivo quantitativo foi realizado na 15ª CRES – Coordenadoria Regional de Saúde – Crateús, formada por onze municípios: Ararendá, Crateús, Independência, Iporanga, Ipueiras, Monsenhor Tabosa, Nova Russas, Novo Oriente, Poranga, Quiterianópolis e Tamboril. Os dados foram coletados através da ficha mensal de profilaxia da raiva, enviada pelos municípios a CRES até o quinto dia útil de cada mês com dados referentes ao mês anterior. No ano de 2009, foram atendidas 577 pessoas, das quais 87,9% receberam tratamento, no ano de 2010, foram 587 pessoas atendidas com 89,6% de tratamentos, já em 2011, foram 812 atendimentos com 93,3% de tratamentos. Quanto as mordeduras, no ano de 2009, os cães foram responsáveis por 69,2% do total e os gatos por 19,2%, no ano de 2010, cães foram 71% e os gatos 19,2%, em 2011 os cães foram 72,4% e gatos 21,4%, sendo que as demais mordeduras foram causadas por primatas, morcegos, raposas, bovinos e equinos. A quantidade de cães e gatos observados pela quantidade destes animais agressores foi de 40,2%, 44,5% e 46,3%, respectivamente nos anos estudados. O número de atendimentos nos anos é bastante elevada e vem apresentando aumento. Os dados também nos revelam que os cães são os principais agressores, seguido pelos gatos, com quantidade de animais agressores observados ascendente. O fato de animais domésticos serem os agressores mais significativos não justifica o alto percentual de tratamentos anti-rábico humano, mostrando a necessidade de capacitação de médicos e enfermeiros em atendimento profilático, bem como uma maior integração entre ESF e os profissionais de controle de zoonoses na indicação de tratamento.

PT.011**TITULAÇÃO DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES DE VÍRUS DA RAIVA DOS DOCENTES DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG), CAMPUS JATAÍ.**

Meirelles-Bartoli RB¹, Cruz CA¹, Sousa DB¹, Assis LN², Costa KD³, Cruz EG³, Rezende Júnior SA⁴, Barcelos AA⁵ – ¹Docente da Universidade Federal de Goiás / Campus Jataí – Laboratório de Sanidade Animal, ²Aluna do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás/Campus Jataí, ³Aluna do curso de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás/Campus Jataí, ⁴Técnico do Laboratório de Análise Clínica Veterinária da Universidade Federal de Goiás/Campus Jataí, ⁵Técnico de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás. Campus Jataí

A profilaxia da raiva humana pode ser feita pré ou pós-exposição ao vírus. A profilaxia pré-exposição, realizada com vacinas, é indicada para as pessoas que, devido à atividade profissional, correm o risco de exposição ao vírus, como veterinários, pesquisadores, professores e alunos que trabalham com animais potencialmente infectados com o vírus da raiva. A profilaxia pós-exposição é indicada para as pessoas que acidentalmente se expuseram ao vírus; combina a limpeza da lesão e a administração da vacina, isoladamente ou em associação com o soro ou a imunoglobulina humana anti-rábica. O objetivo do trabalho foi avaliar o perfil sorológico de anticorpos neutralizantes de vírus da raiva dos docentes do curso de Medicina Veterinária da Universidade

Federal de Goiás, Campus Jataí. Foram coletados 5 mL de sangue de 17 professores e encaminhado para o Instituto Pasteur 2 mL de soro congelado de cada amostra em microtubos acondicionados em caixa de isopor com gelo reciclável mantendo uma temperatura entre 4º a 8º graus. Todas as amostras estavam devidamente identificadas e acompanhadas de ficha de requisição. O Microteste Simplificado de Inibição de Fluorescência foi utilizado pelo Instituto Pasteur para a titulação dos anticorpos. Das 17 amostras, 07 (41,2%) apresentaram titulação satisfatória ($\geq 0,5$ UI/mL) e 10 (58,8%) insatisfatória ($< 0,5$ UI/mL). Por meio da ficha epidemiológica foram observadas algumas características em relação à profilaxia da raiva recebida por estes professores. Dos 17 docentes, 12 (70,6%) receberam profilaxia pré-exposição durante o curso de Medicina Veterinária e 05 (29,4%) já haviam recebido profilaxia pós-exposição antes da faculdade. Dos 12 professores que receberam a profilaxia pré-exposição, 01 (8,3%) relatou realizar exames de sorológicos anualmente, 04 (33,4%) confirmaram ter recebido dose reforço sem a realização de sorologia prévia e os outros 07 (58,3%) disseram nunca ter recebido uma dose reforço e nem ter realizado sorologia. Os 05 docentes que realizaram profilaxia pós-exposição receberam soro-vacinação, sendo que, 02 (40%) também receberam o esquema de profilaxia pré-exposição no momento que entraram na faculdade, sem realização de sorologia prévia; 01 (20%) disse nunca ter realizado sorologia e nem tomado dose reforço; 01 (20%) comentou ter feito um novo tratamento pós-exposição (sorovacinação), mas nunca realizado um exame sorológico; e 01 (20%) relatou que assim que entrou no curso de Medicina Veterinária comunicou já ter realizado profilaxia pós-exposição, e que faz monitoramento sorológico periodicamente, recebendo dose reforço somente quando apresenta titulação insatisfatória. Desta forma, podemos concluir que existe a necessidade de alertar e estimular a realização de sorologias periódicas e prévias à dose reforço para que estes profissionais não sejam expostos a reações adversas pelo recebimento de tratamentos desnecessários. Agradecimento ao Instituto Pasteur pela realização das titulações.

PT.012**ESTUDO COMPARATIVO DA OCORRÊNCIA DE RAIVA EM HERBÍVOROS E ATENDIMENTOS ANTIRRÁBICOS HUMANOS NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO NO PERÍODO DE 1999 A 2011**

Bocchi MR^{1,2}, Paulino FS¹, Tomé MFA¹ – ¹Fatec Rio Preto – Faculdade de Tecnologia em Agronegócio, ²Grupo de Vigilância Epidemiológica ²⁹ – SJRP

A raiva, que nos bovinos se manifesta de forma paralítica, acarreta grandes prejuízos aos pecuaristas. No homem pode caracteriza-se por uma encefalite de alta letalidade. O objetivo deste trabalho foi estudar a distribuição temporal e geográfica da raiva em herbívoros e dos atendimentos antirrâbicos humanos na região de São José do Rio Preto. As fontes de dados foram Grupo de Vigilância Epidemiológica e Escritórios de Defesa Agropecuária, a tabulação foi feita utilizando Excel e o mapeamento utilizando programas *TrackMaker* e *Google Earth*. Os resultados mostraram que o número de AARHs (Atendimentos Antirrâbicos Humanos) por contato com herbívoros seguem padrões mensais semelhantes ao longo dos anos, com aumento em fevereiro/abril e setembro/outubro e o mesmo padrão ocorre com nos focos em herbívoros. A notificação de raiva em herbívoros ocorreu em 1999, 2000, 2003, 2006, 2007, 2008, 2010 e 2011, próxima a cursos d'água e área antropizada. Foram encontrados 25 propriedades com focos de raiva (bovinos/equinos) totalizando 57 animais em 14 municípios. Evidenciase correlação entre aumento de casos de raiva em herbívoros seguido de aumento do número de pessoas tratadas.

Estes aumentos podem coincidir com períodos de aumento de pluviosidade, cheias de rios e melhoria de pastagem. O coeficiente de incidência demonstrou uma grande variabilidade, dados que nos direcionam a novas pesquisas, assim como a falta do dimensionamento dos prejuízos econômicos e subnotificação de casos. Essa dificuldade em contabilizar os casos, somados às várias fontes de informação dificulta a obtenção de dados. Conclui-se que a raiva causa perdas econômicas e risco à saúde pública, porém não estimados. A ocorrência de raiva em herbívoros e atendimentos antirrábicos humanos coincide e apresenta aumentos nos períodos de fevereiro a março e setembro a outubro. Há relação dos casos com o mapa hidrográfico da região, direcionando a pesquisas a respeito dos fatores condicionantes. É difícil padronizar dados de diversas fontes, sugere-se a criação de banco de dados que permita compartilhar as informações entre as instituições.

PT.013

AVALIAÇÃO DE QUIRÓPTEROS POSITIVOS PARA RAIVA E SITUAÇÃO VACINAL DOS GATOS NO BLOQUEIO DE FOCO DE BOTUCATU-SP, EM UM PERÍODO DE 5 ANOS

Carvalho VM^{1,2,3,4,5} – ¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP Campus Botucatu – Depto de Higiene Veterinária e Saúde Pública, ²Prof. Dr. Cassiano Victória – Depto de Higiene Veterinária e Saúde Pública, ³Prof. Dr. Carlos Roberto Padovanni – Depto de Bioestatística, ⁴Gabriella Koppány González – Equipe de Vigilância Ambiental em Saúde, Prefeitura de Botucatu, ⁵Valdinei Moraes Campanucci da Silva – Equipe de Vigilância Ambiental em Saúde, Prefeitura de Botucatu

Palavras Chave: Quirópteros – Felinos – Raiva

Introdução: O presente trabalho avaliou a situação do risco de transmissão da Raiva em felinos levando-se em consideração a incidência de quirópteros positivos para a Raiva e o percentual da cobertura vacinal em gatos nas áreas de Bloqueio de Foco no município de Botucatu-SP, através de um estudo retrospectivo no período de 2005 à 2009. Para análise foram utilizados os relatórios de bloqueio de foco fornecidos pela Equipe de Vigilância Ambiental em Saúde (EVAS) da Prefeitura Municipal de Botucatu. **Resultados e Discussão:** No período avaliado, constatou-se 9 casos de quirópteros positivos para Raiva no município, de 4 espécies diferentes. Durante os 5 anos de Bloqueio de Foco, 10.625 residências foram visitadas e avaliado a situação vacinal e idade de 5.103 cães e 980 gatos. Posteriormente os dados levantados pelo Bloqueio de Foco foram comparados com os resultados obtidos na Campanha de Vacinação Antirrábica no mesmo período, para avaliar se os felinos domiciliados no perímetro do Foco estavam corretamente imunizados contra Raiva e se há risco real de transmissão da doença. **Conclusão:** Considerando que a média da cobertura vacinal nas Campanhas Antirrábicas no período de 2005 à 2009 foi 52,65%, índice abaixo do preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e que na avaliação do estado vacinal dos gatos conferidos pelo Bloqueio de Foco indicam que 92% dos felinos não estavam previamente imunizados, concluindo que há risco de reintrodução da Raiva em humanos através do ciclo: quirópteros – felinos – humanos, caso as Campanhas de Vacinação não atinjam a Meta Vacinal para gatos no Município de Botucatu. **Agradecimentos:** Ao Depto de Higiene e Saúde Pública da FMVZ – Unesp Campus Botucatu, a Equipe de Vigilância Ambiental em Saúde da Prefeitura de Botucatu – SP e a agência FAPESP pelo financiamento da pesquisa.

PT.014

MONITORAMENTO DE MORCEGOS (QUIROPTERA) COMO ESTRATÉGIA DE VIGILÂNCIA DA CIRCULAÇÃO DO VÍRUS DA RAIVA NO RIO GRANDE DO SUL

Witt AA¹, Donini MAW, Predebon J, Diedrich G, Prato R – ¹Centro Estadual de Vigilância em Saúde/RS – Programa Estadual de Controle e Profilaxia da Raiva

Morcegos são animais comuns em áreas urbanas no Rio Grande do Sul, principalmente em grandes cidades. Atualmente, dentre os animais sinantrópicos observados nessas áreas os morcegos são, provavelmente, os que causam maior preocupação por parte das autoridades de saúde pública. Segundo o Ministério da Saúde, desde 2004, os morcegos são os principais agentes na disseminação do vírus da raiva no Brasil. Diante desse cenário, a Secretaria Estadual de Saúde através do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS), instituiu o Programa de Monitoramento de Morcegos, com o objetivo de estudar a importância dos quirópteros no ciclo urbano da raiva. O monitoramento de raiva através de amostras de morcegos era realizado até o ano de 2011, de forma passiva, onde os morcegos encontrados em situações não habituais (caídos no chão, dentro de casa, etc.), eram enviados para investigação laboratorial sem terem sido identificadas e catalogadas as espécies envolvidas neste processo. Sendo assim, o CEVS passou então a identificar e catalogar os animais enviados pela população, com o objetivo de traçar estratégias para o manejo de morcegos em áreas urbanas no Estado. Além disto, foi estabelecida rotina para coleta de morcegos, para obtenção de amostras de saliva, sangue e tecido cerebral de indivíduos em colônias de diversas regiões do Estado. A maior parte dos morcegos é anilhada e solta para verificar deslocamentos entre cidades e regiões positivas para raiva. No ano de 2011 foram enviadas para análise 268 amostras de quirópteros, das quais apenas seis indivíduos de morcegos nãohematófagos resultaram positivos. A maioria das amostras de morcegos pertence à família Molossidae, onde se observam espécies bem adaptadas à vida nas cidades. Com base neste monitoramento o Rio Grande do Sul está investindo na prevenção e investigação da circulação do vírus rábico nas áreas urbanas, onde atualmente, o morcego é considerado o principal agente transmissor.

PT.015

DETECTION OF B LYMPHOCYTES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF CATTLE AND HORSES NATURALLY INFECTED WITH RABIES VIRUS.

Achkar SM¹, Fernandes ER¹, Carrieri ML¹, DUARTE MIS² – ¹Instituto Pasteur – Laboratório de Diagnóstico da Raiva, ²Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Departamento de Patologia

Humoral immunity has an essential protective function in the course of rabies virus infection. Virus-neutralizing antibodies, under the control of T helper cells, play a critical role in immunoprotection. Therefore, our aim was to detect the presence of B lymphocytes in samples of central nervous system (CNS) from cattle and horses and compare the findings between species. For this were selected four samples of cattle and four samples of horses. Fragments CNS (cortex, hippocampus, cerebellum and brain stem) were analyzed by immunohistochemical reaction. All immunostained cells were quantified with the aid of the graticule of 1 cm² coupled in light microscope with 10x eyepiece and 40x objective, were quantified 40 fields in every fragment of the CNS. Results were expressed in number of cells per mm². When comparing the population of B lymphocytes in cattle and horses, we found a statistically significant increase of these cells in cattle in relation to horses (p = 0.0006). By analyzing

the different brain areas in samples obtained from bovine not was found statistically significant differences between areas, but in samples of horses was found a greater presence of these cells in the brain stem ($p = 0.0266$). We could also observe that the meningeal and perivascular environments were where we find more immunostaining for B lymphocytes. The detection of B lymphocytes in CNS samples of cattle and horses was more pronounced in meningeal and perivascular environments, suggesting that these cells would be entering the CNS by breaking the blood brain barrier, however, the induction of specific antibodies for viral clearance is delayed, occurring only when the animal already have in severe neuronal damage. Although we have detected B cells *in situ* in the samples studied, these cells were in small amounts mainly in samples of horses. The collaboration intercellular between CD4 + T lymphocytes and B lymphocytes for activation of these cells and consequently induction of specific antibodies to the virus may be impaired because CD4 + T lymphocytes when entering the CNS may undergo apoptosis through its association with infected neurons that up expressing FASL and bind to CD4 + T cells expressing FAS occurring so the death of these immune cells essential for protection against rabies virus. These findings are important for understanding how the immune response is manifested in these animal species and also to improve understanding of the pathogenesis of rabies in cattle and horses.

Financial support: INSTITUTO PASTEUR/FACULDADE DE MEDICINA DA USP

PT.016

EFFICACY OF RECOMBINANT ADENOVIRUS EXPRESSING G PROTEIN OF RABIES IN MICE

Yang DK¹, Kim HH¹, Song JY¹ – ¹QIA – Viral disease

Background: Since rabies case occurred again in 1993, a number of animal rabies had been reported up to 2011. Even though animal rabies cases seemed to be decreased, the continuous outbreak was identified at some counties of Gangwon Provinces of Korea. Although national mass vaccination program with live and inactivated vaccines to domestic and pet animals has blocked dog-to-dog transmission, most of rabies cases are related with to animal bitten by rabid raccoon dogs and rabies in wild animals are not eradicated. A safe and effective vaccine is needed for the immunization of wild animals and dogs. Human adenoviruses have been studied as viral vector. In this study, we constructed three kinds of recombinant adenovirus expressing rabies proteins and checked efficacy of the constructs in mice.

Material and Methods: Rabies virus (RABV) circulating in Korea was isolated using neuroblastoma cell (NG108-15) in 2009. The RABV designated as KRVB0910 strain was propagated in the NG108-15 cells for the cloning of genes. In order to analysis the glycoprotein (G) and nucleocapsid (N) genes of the strain, the G and N genes were amplified with three kinds of primers and cloned into pENTR/D-TOPO cloning vector respectively. After cloning three genes (Nfull, Gfull, G-TMCD), each plasmids containing the genes were transfected into TOP10 competent cells. The purified plasmids were mixed with pAd/CMV/V5-DEST gateway vector and the mixtures had reaction with LR Clonase II enzyme to catalyze the LR recombination reaction. After confirming the expression clones, the clones were digested with Pac I to expose the ITRs and transfected into the 293A cell lines to construct recombinant adenovirus (reAdV) expressing N and G genes of RABV. The 293A cells transfected with the clones showed specific cytopathic effect. For 6 days after inoculation, the cells were stained with monoclonal antibodies and FITC conjugated goat anti human IgG+IgM and examined by fluorescent microscopy. To check efficacy of three kinds of reAdVs, the reAdVs containing 108.0 TCID₅₀/ml was

inoculated into 4 weeks old Balb/C mice. Survival rate and change of body weight of the mice were checked for 17 days after challenge. **Results:** We successfully reconstructed three kinds of reAdVs (Nfull, Gfull, G-TMCD) in 293A cells. The titer of reAdVs ranged from 107.7 to 108.0 TCID₅₀/ml. Four groups of mice (Gfull, G-TMCD, Nfull+Gfull, Nfull+G-TMCD) were inoculated with 0.2 ml reAdV and half of mice in each group were challenged with CVS2c strain intramuscularly 21 days after inoculation. All mice did not show any typical rabies symptoms and showed complete protection. On the other hand, half of mice in three groups (Gfull, G-TMCD, G-TMCD+Nfull) did not show complete protection against challenge by intracranial (IC) route. However, the one group inoculated with Nfull+Gfull reAdVs revealed 100% survival rate. These data demonstrated the potential of the reAdV as a safe rabies vaccine.

Conclusion: We constructed three kinds of reAdVs in 293A cells. The combination of two kinds of reAdVs (Nfull+Gfull) may be a useful tool in search of rabies vaccine candidate for animals and further study related to oral vaccination of dogs and raccoon dogs is needed in the near future.

PT.017

INTERACTION OF RABIES VIRUS GLYCOPROTEIN FRAGMENTS WITH THE NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR

Rideout SA¹, Harris MB², Hueffer K³, Schulte MK² – ¹University of Alaska Fairbanks, ²University of Alaska Fairbanks, ³University of Alaska – Veterinary Medicine

The rabies virus glycoprotein (RVG) interacts with Torpedo and muscle nicotinic acetylcholine receptors (nAChR). The field of Ligand Gated Ion Channels, such as the nicotinic receptors, has benefited greatly over the last decade due to the discovery of non-membrane bound Acetylcholine Binding Proteins (AChBP). Since nicotinic acetylcholine receptors and the AChBP share significant sequence and structural homology in the neurotoxin binding domain, the AChBP could provide a useful model for studying the molecular basis of the RVG/nAChR interaction. In this study we investigated the interaction between RVG neurotoxin like peptide fragments and the AChBP. Surface Plasmon resonance (SPR) was used to assess binding kinetics to the AChBP. Electrophysiology experiments were used to compare these results to interactions between these RVG fragments and human nicotinic acetylcholine receptor subtypes. RVG fragments were shown to bind with micromolar affinity to the Lymnaea AChBP. SPR permits determination of on and off rates for binding of all 6 fragments. Our data show slow on rates ($k_{on} = 100-300 \text{ 1/M}\cdot\text{s}$) with off rates ($k_{off} = 0.01-0.004 \text{ 1/ M}\cdot\text{s}$) corresponding to binding with a dissociate rate (K_d of 25.4-60.3 micromolar). Voltage clamp electrophysiology data obtained using *Xenopus* oocytes shows similar K_i values for inhibition of acetylcholine induced responses on $\alpha 4/\beta 2$ nAChR.

PT.018

RABIES IN IRAN

Baghaipour MR¹ – ¹Milad Hospital

Rabies is a disease caused by a virus, Lyssavirus rabies that affects the nervous system and usually results in death unless treated quickly. Rabies is found in mammals in all regions of the world. The disease infects domestic and wild animals, and is spread to people through close contact with infected saliva via bites or scratches. Dogs are the main host and transmitter of rabies but bats,

foxes, raccoons, coyotes, wolves may transmit the disease as well. More than 50 000 people die of rabies every year. The virus spreads through the central nervous system and progressive, fatal inflammation of the brain and spinal cord develops. After an incubation period of 1–3 months (days to years) the initial symptoms start with fever and often pain or paraesthesia at the wound site. In about 35% of the patients, Rabies has a longer course. The muscles gradually become paralyzed, starting at the site of the bite or scratch. A coma slowly develops, and eventually death occurs. It is named the paralytic form and its diagnosis is difficult. The majority of patients show a furious form and exhibit signs of hyperactivity, excited behavior, hydrophobia and sometimes aerophobia. After a few days, death occurs by cardio-respiratory arrest. No tests are available to diagnose rabies infection in humans before the onset of clinical disease. For suspected animals, taking tissue samples (often brain tissue) and using immunofluorescence or immunological techniques to detect the virus is the mainstay of diagnosis. A person exposed to rabies should ideally be treated within 12 hours of the exposure and definitely within 48 hours for the best outcome. They are usually treated with rabies immune globulin and rabies vaccine initially and then get several additional vaccine injections. The number of infected person has been decreased during past decade in Iran. Most of them are males and under ten years old. More than 250 centers provide post exposure treatment for Rabies and Pasture Institute have produced IG and Vaccine of Rabies since 85 years ago.

PT.019 PROGRAMAS DE EDUCAÇÃO EM SAÚDE – ALCANCE, ESTRATÉGIAS, METODOLOGIA.

Reichmann MLB¹, Nunes VFP², Santos MB³, Viaro O⁴ – ¹Instituto Pasteur – Assistente Técnico, ²Prefeitura do Município de Jundiá – Jardim Botânico, ³Ministério do Meio Ambiente – Instituto Chico Mendes, ⁴Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo – Centro de Controle de Zoonoses

Introdução: A Educação em Saúde deve ser estruturada em ações programáticas. Os profissionais da área devem conhecer a realidade local a ser trabalhada, estratégias específicas que favoreçam a incorporação de princípios de promoção da saúde, preservação do meio ambiente, a interação saudável com animais de estimação, efetivando a guarda responsável. Os interlocutores devem ser estimulados a compreender o assunto, analisar as informações, aplicar os conteúdos aprendidos e experimentar mudanças em seus hábitos e comportamentos, transferindo e replicando os conceitos adquiridos e incorporando-os a sua cultura e a seus valores. **Objetivos:** Divulgar os trabalhos de educação em saúde do Estado de São Paulo – SP, em 2011. **Materiais e Métodos:** Pesquisa documental nos programas de educação e promoção da saúde nos municípios que utilizam metodologia compatível com as pesquisas científicas, gerando um roteiro, descrevendo atividades e resultados obtidos. **Resultados:** O roteiro utilizado incluiu resumidamente: conhecer e visitar o local habitado pelos interlocutores, identificar problemas na interação com animais, estabelecer objetivos e estratégias compatíveis com aquilo que deve ser trabalhado, avaliar periodicamente os resultados e corrigir vieses. As ações programáticas geraram instrumentos que serviram de normas e diretrizes para informar, nortear e educar interlocutores de diferentes classes socioeconômicas e educacionais, fortalecendo vínculos para uma melhor qualidade de vida. **Conclusão:** A incorporação de programas de educação em saúde por profissionais das áreas de Saúde, Meio Ambiente e Saúde Animal, desde o início de suas carreiras, utilizando metodologia compatível com suas atribuições propicia maior efetividade nos resultados.

PT.020 AVALIAÇÃO DOS ESTRATOS DA POPULAÇÃO CANINA DE MUNICÍPIOS DO INTERIOR DO ESTADO DE SÃO PAULO – BREVE AVALIAÇÃO DA LITERATURA.

Reichmann MLB¹, Alves MCGP², Matos MR³, Dominguez MHS⁴, Dominguez MHS⁴ – ¹Instituto Pasteur – Assistente Técnico, ²Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo – Instituto de Saúde, ³Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo – Superintendência de Controle de Endemias, ⁴Profissional autônoma

Introdução: Uma das principais questões relacionadas ao cuidado e proteção da saúde humana e animal consiste na determinação do número de animais e de suas demais características demográficas. Esta avaliação sempre foi possível em um dos estratos, a de cães com proprietários, uma vez que a presença nos domicílios permite sua contagem. A Técnica Pasteur São Paulo (TPSP) foi um modelo de avaliação de populações caninas de áreas urbanas, desenvolvido em 2001, que permitiu a estimação da população segundo os estratos de restrição e dependência. Metodologia: Em 2002, a TPSP foi aplicada nos municípios do interior do Estado de São Paulo para estimar o número de cães existentes segundo estratos e conhecer aspectos relacionados à vacinação e dinâmica populacional. A amostra foi composta de 100 setores censitários, distribuídos em 41 municípios. Resultados: Foram obtidos dados que se situavam acima da relação até então disponíveis, indicando uma proporção de um cão para cada quatro habitantes. Salientase a baixa idade dos cães, em média, de quatro anos, indicativa da velocidade da reposição populacional. A maior concentração (59%) de cães foi de até três anos, gerando preocupações com a introdução continua de animais susceptíveis e os possíveis prejuízos no controle da leishmaniose e demais zoonoses. Estas dificuldades ficam presentes quando se observa a alta percentagem (20%) de proprietários que desconheciam se seus animais foram vacinados contra a raiva nos 12 meses anteriores e quantas crias foram geradas nos partos ocorridos no mesmo prazo de tempo. Conclusões: Mesmo para cães com proprietário, parcela teoricamente mais protegida, a convivência com animais de estimação não tem se revestido da responsabilidade legal para prevenção de doenças que envolvam as pessoas e os animais. Recomenda-se a inserção de programas suplementares, como os de educação, de registro e concessão de licenças e a interação com profissionais de diversas especialidades para obtenção de resultados concretos no equilíbrio ecológico de cães mantidos em domicílios.

PT.021 UTILIZAÇÃO DO GEOPROCESSAMENTO COMO FERRAMENTA NO MONITORAMENTO E CONTROLE POPULACIONAL DOS MORCEGOS HEMATÓFAGOS NAS ILHAS FLUVIAIS DO MUNICÍPIO DE ANANINDEUAPARÁ/ BRASIL.

Ramos OS, Barreiros MA, Souza EM, Souza SMF, Melo TIS

É crescente a importância do ciclo silvestre envolvendo os morcegos hematófagos na região, tem sido observada uma mudança no perfil epidemiológico da raiva humana no estado do Pará, tornando os morcegos os principais responsáveis pela doença. O presente trabalho visa fornecer subsídios possibilitando um banco de dados geográficos dos principais eventos, para gerar mapas de áreas propícias para o ataque espoliativo de morcegos hematófagos, fazendo o controle populacional dos quirópteros, cadastrando e georreferenciando abrigos e as propriedades dos moradores ribeirinhos das ilhas Sasunema, João Pilatos, Santa Rosa e Viçosa onde os animais (suínos, bovinos e

Aves) são atacados. Diante dos fatos, o sistema de Vigilância em Saúde do município de Ananindeua programou as ações em 2012 usando as técnicas de geoprocessamento. Os mapas foram elaborados utilizando-se o sistema ARC. GIS 9.3, as bases cartográficas do Município de Ananindeua e o equipamento GPS MAP 60 CSX Garmin. Foram atendidas, 05 propriedades na Ilha João Pilatos, 01 na Ilha Viçosa e 01 na Ilha Santa Rosa. Sendo capturados 35 morcegos hematófagos georreferenciados e cadastrados 06 abrigos artificiais e 03 abrigos naturais e 07 pontos de captura gerando mapa para fazer uma avaliação espacial. Certas características de uma região determinam altas populações de *D. rotundus* em áreas próximas aos rios, geralmente favorecem a existência de um número maior de abrigos Lord (1988). Os abrigos artificiais georreferenciados, a maioria são: Caeiras desativadas e casas de taipa abandonadas foram encontrados morcegos em ocos de árvores denominadas siriúba (*Avicennia nitida*) ao longo dos rios. Investigação epidemiológica sobre o caso de raiva em Augusto Corrêa relata a existência de grande população de morcegos que habitam os manguezais e abrigam-se no oco da siriubeira Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2005). Ao se inter-relacionar as bases de dados georreferenciados e espresas-las visualmente através do mapa digital, pode-se observar que os abrigos e as propriedades atacadas por morcegos localizam-se as proximidades dos rios, possivelmente os mesmos deslocam-se através dos manguezais que margeiam as ilhas. O controle da população dos morcegos hematófagos conforme o mapa, ajuda na caracterização do transmissor, identificando as comunidades mais afetadas e definindo a situação de risco, estabelecendo uma ação estratégica específica de vigilância a saúde. **Palavras-Chave:** Ananindeua, georreferenciamento, morcego hematofago, mapa Agradecemos a Dra Ivete Gadelha Vaz Secretária de Saúde de Ananindeua pelo apoio, e os agentes de endemias Artemis, J.Theodósio, Aviz, Augusto, Erivaldo e Edmilson por suas dedicações na captura.

PT.022

PHYLOGEOGRAPHY OF THE RABIES VIRUS ISOLATED FROM CANIDS IN THE NORTH AND NORTHEAST OF BRAZIL

Carnieli Jr P¹, Oliveira RN¹, Castilho JG¹, Vieira LFP² – ¹Instituto Pasteur, Brasil – Diagnóstico, ²Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo, Espírito Santo, Brazil

Antigenic variant 2 of the Rabies Virus (RABV), typically found in dogs in Brazil, still circulates in the North and Northeast of Brazil in spite of mass vaccination campaigns against rabies in domestic animals. Previous studies have shown that this variant is made up of two main genetic lineages: one found in dogs (*Canis familiaris*) and another typically found in wild canids, particularly the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), which is known in Brazil as *cachorro do mato*. *C. thous* is currently the only wild land species in which RABV is continually isolated, with an average of 20 cases/year. Although previous studies and phylogenetic analyses of the N and G genes and intergenic G-L region all confirmed the existence of these two genetic lineages, the way in which the lineages had dispersed temporally and spatially remained to be elucidated. We sequenced a 1388 nucleotide-long region of the RABV N gene from 53 typical canid samples. The phylogeography of the dataset obtained was determined using the BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) program with the following data for the script: Evolutionary Model K3Puf+G4; Partitioning into codon positions (1+2)+3; Molecular clock relaxed uncorrelated lognormal; Demographic model coalescent exponential growth; Dispersion model relaxed random walking (RRW). The results can be summarized as follows. The common ancestor of the RABV in the samples analyzed became established around 1900 in the border region between the states of Paraíba and Pernambuco

and diversified into the lineages typically found in *C. familiaris* and *C. thous*. Around 1910 the original *C. thous* lineage diversified into two main sublineages in the same area, one of which migrated to the south and the other to the north. Then, around 1930 the southern sublineage diversified even further and moved in two directions: toward the state of Bahia and toward the state of Pernambuco. In approximately 1945 the northern sublineage of *C. thous* also diversified, resulting in a sublineage that remained in the state of Pernambuco and another that diversified even further and moved toward the state of Piauí. The lineage typically found in *C. familiaris* diversified around 1945 and moved toward the north and south. However, around 1970 it underwent a major diversification when one of the 1945 sublineages divided into two sublineages, one of which migrated to the states of Pernambuco, Sergipe and Alagoas and the other to the states of Pará and Piauí. Analysis with the RRW model allowed us to infer not only the movement of the virus lineages isolated from *C. familiaris* and *C. thous* among the municipalities sampled, but also the probable location where dispersion of the lineages occurred. Further studies covering a longer period and using more samples are required to confirm the pattern of movement of the virus described here so that its geographic spread can be predicted and blocked. Financial Support: Instituto Pasteur, São Paulo, Brazil.

PT.023

A PRELIMINARY ANALYSIS OF THE GLYCOSYLATION PATTERN OF SERUM IgG FOLLOWING PRE-EXPOSURE SCHEME FOR HUMAN RABIES VACCINE

Silva SR¹, Cunha Neto RS², Chaves LB¹, Faquim-Mauro EL³, Silva ACR¹ – ¹Instituto Pasteur – Seção de Diagnóstico, ²Instituto Butantan – Laboratório de Bioquímica e Biofísica, ³Instituto Butantan – Laboratório de Imunopatologia

Introduction: The currently recommended by WHO for prevention individuals exposed to rabies virus (RV) is pre-exposure prophylaxis (PEP) through the administration of three doses of rabies vaccine by intradermal (ID) or intramuscular (IM) route. The previous study showed that the persistence of protective antibodies titer in the IM schedule is more long-lived, suggesting a different clearance mechanism of antibody. It known that carbohydrate modification of antibodies could induce accelerated clearance or modulate of antibody effector functions. All endogenous IgG antibodies contain an N-linked glycan in the Fc region and about 20% contain glycans elsewhere on the molecule to maintain the two heavy chains of the Fc in an open conformation required for interactions with activating Fcγ receptors (FcγRs). **Objective:** Based on these data, we compared the glycosylation patterns of serum IgG of individuals who received the PEP schedule by ID or IM route. **Methods:** The Purified Vero Cell Vaccine (PVCV) (Sanofi /Pasteur Laboratory) was utilized, with a minimum of 2.5 IU per dose. Sera of individuals who previously received the PEP by the IM (n= 15; 0.5 mL per vaccine dose) or by the ID (n= 19; 0.1 mL /dose) route were collected to IgG detection and its subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4) by antigen-specific ELISA and to measured RV neutralizing antibodies by rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT). The N-linked oligosaccharide chain of purified IgG antibodies from serum was evaluated by a lectin enzyme-linked immunosorbent assay. **Results:** All 34 persons tested developed titers of antibody ≥ 0.5 IU/mL, with a maximum geometric mean titer of 18.0 IU/mL. There was no statistically significant relation between neutralizing antibody titer and route of administration. Similarly, the majority of the anti-rabies humoral responses were restricted to the IgG1 subclass in both groups. However, the lectin-binding assay showed difference on the monosaccharide content, mainly of galactose, neuraminic acid, mannose and fucose between serum IgG1

individuals who received the PVCV by ID or IM route. **Conclusion:** These results suggest that IgG1 serum of individuals vaccinated intramuscularly with PVCV are more glycosylated than IgG1 serum of subjects who received the vaccine intradermally. This differential glycosylation patterns between antibodies is encouraging and warrants further examination.

PT.024

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DAS AGRESSÕES POR ANIMAIS SILVESTRES NA 10ª REGIÃO DE SAÚDE/LIMOEIRO DO NORTE – CE/ 2007 A 2011.

LIMA FMG¹, CHAVES CS¹, RODRIGUES VC² – ¹Secretaria de Saúde do Estado do Ceará – ^{10ª} Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, ²Secretaria de Saúde do Estado do Ceará – ^{10ª} Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte

Introdução: no Brasil, a partir de 2004, aumentou o número de casos humanos de raiva transmitidos por animais silvestres (MS, 2011). O Ceará, em 2008 e 2010 teve dois óbitos transmitidos por sagui. Apesar de não registrar casos humanos, aumentaram as agressões por animais silvestres na 10ª Coordenadoria Regional de Saúde, de 29 casos em 2007 para 35 em 2011. Nesse período 12,5% das amostras foram positivas, um canídeo silvestre e um morcego hematófago (*Desmodus rotundus*). **Objetivo:** analisar a epidemiologia das agressões por primata não humano, quiróptero e canídeo silvestre na 10ª Região de Saúde – Limoeiro do Norte – CE, de 2007 a 2011, enfocando o risco epidemiológico para a raiva a que sua população está submetida. **Metodologia:** o estudo trata-se de uma pesquisa documental e bibliográfica dos relatórios do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINANNET, 2012), da Ficha Epidemiológica de Profilaxia da Raiva Humana (10ª CRES) e artigos recentes. **Resultados:** na Região de Saúde predominaram as agressões por primatas não humanos (71,1%), seguidos por quirópteros (18,4%), e canídeos silvestres (10,4%). O sexo masculino foi o mais agredido por quiróptero (62,1%) e canídeo silvestre (75%). O feminino se expôs em 55,3% nas agressões por primatas não humanos, com um aumento de 17 agressões em 2007, para 25 em 2011. Mãos e pés tiveram 42,98% das lesões, membros inferiores 24,1%, membros superiores 21,49%, tronco 5,26%, cabeça/pescoço 4,38%, mucosa 1,75%. Registraram-se 67% dos ferimentos como único, e 33% múltiplo. Em 47,7% dos acidentes o ferimento foi profundo, 47,2% superficial, e 4,9% dilacerante. O soro antirrábico foi administrado em 60,2% dos pacientes, revelando que ocorreu um maior número de acidentes graves. **Conclusão:** embora não haja histórico de raiva humana, o registro de animais silvestres positivos indica a circulação do vírus na região, que aliado ao alto percentual de lesões graves, potencializa o risco de transmissão caso a vigilância do agravo seja negligenciada.

PT.025

HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN DOGS AND CATS VACCINATED AGAINST RABIES IN THE MUNICIPALITIES OF DRACENA AND PRESIDENTE PRUDENTE, SP, BRAZIL.

Albas A¹, PÍCOL⁰ MR, SOARES CN, BACHEGA HVH, TARUMOTO MH – ¹APTA – PÓLO ALTA SOROCABANA

Introduction: In Brazil, has been made campaigns to vaccinate dogs and cats once a year in almost all municipalities and these animals are among the main transmitters of rabies to humans. The presence of rabies antibodies in animals is likely a good indicator that they are immunized and protected

this zoonosis. **Objective:** This experiment aimed to investigate the humoral immune response in dogs and cats vaccinated against rabies in the Municipalities of Presidente Prudente and Dracena 12 months before the mass vaccination campaign conducted in 2009. **Methods:** In this paper are reported the results of 834 sera from dogs and cats involving these animals. It was used for this purpose, the technique of Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RF-FIT) and was considered as reactant sera with values ≥ 0.5 IU/ml. **Results:** Thus, Presidente Prudente had 153 (51.0%) samples reactants for dogs and 59 (32.6%) reactants for cats, while the Municipality of Dracena had 110 (52.1%) samples reactants for dogs and 71 (50.0%) for cats. **Conclusion:** In this paper, is discussed the vaccinal coverage of the animals involved in this experiment. It was observed low percentages of titres ≥ 0.5 IU/ml, especially in cats of Presidente Prudente. Financial Support: FAPESP, process 08/54266-3.

PT.026

DEVELOPMENT OF REAL TIME RT-PCR (TAQMAN) FOR DETECTION AND GENETIC CHARACTERIZATION OF ANTE-MORTEM HUMAN RABIES

Mori E¹, Scheffer KC¹, Fahl WO¹, Oliveira RN¹, Asano KM¹, Carnieli Jr P¹, Carrieri ML¹, Kotait I¹ – ¹Instituto Pasteur de São Paulo – Diagnóstico

Human rabies is still an important public health problem in some Brazilian regions. Usually, ante-mortem diagnosis of rabies is made by demonstration of virus antigen by direct immunofluorescence in corneal or conjunctival smears and skin biopsies; however, this technique has a low sensitivity. Recently, molecular techniques such as the reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and nucleic acid sequence based amplification assay (NASBA) have been developed to improve the sensitivity and specificity of ante as well as post-mortem diagnosis of rabies. Rapid and accurate diagnosis of ante-mortem human rabies is essential for effective medical management and to ensure appropriate post-exposure prophylaxis of potential contacts with the patient. The present study was carried out to evaluate the sensitivity and specificity of real time RT-PCR (Taqman) in comparison with RT-PCR and DNA sequencing for the diagnosis of rabies. From June through July 2012, nine specimens from three patients with rabies were submitted to the Pasteur Institute for rabies diagnosis. Five saliva (2551 and 2613 to 2616) and two hair follicles (2552 and 2612) specimens were collected serially from patient suspected of having rabies from Mato Grosso (MT) state. Saliva (3550 and 4109) specimens were collected from patients *rabies suspected* from Minas Gerais (MG) and Maranhao (MA) states, respectively. The positive rabies results were confirmed by RT-PCR using primers targeted to nucleoprotein (N) gene and all of specimens were identified as compatible with hematophagous bat lineage (variant 3) by DNA sequencing, with the exception of the saliva collected from MA patient, which was genotyped as canid lineage (variant 2). A real time RT-PCR (Taqman), with two primers and probe sets targeting to N, has been described in order to validate an alternative method for rabies diagnosis in ante-mortem samples. This method was capable of accurately identifying the variant 3 in saliva specimens collected from MT patient previously genotyped as hematophagous bat lineage. The hair follicle and saliva specimens from MT and MG patients, respectively, yielded high Ct (threshold cycle) values (between 35 and 38), suggesting low viral load. This assay failed to detect amplification in the challenge virus standard (CVS) strain and saliva collected from MA patient (genotyped as variant 2) due to mismatches between the primers/probe sets and the target N gene. Thus, our results showed the usefulness of real time RT-PCR as a rapid alternative to DNA sequencing (at least four times faster) for the confirmation of rabies diagnosis.

PT.027**KINETIC OF RABIES ANTIBODIES IN DOGS PRIME VACCINATED**

Babboni SD¹, COSTA HF², Martorelli LFA³, Kataoka APAG³, VICTORIA C¹, PADOVANI CR⁴, Modolo JR¹ – ¹UNESP -Botucatu – Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, ²UNESP- Araçatuba – Departamento de apoio, produção e saúde animal, ³Centro de Controle de Zoonoses – Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores, ⁴UNESP -Botucatu – Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências

Introducción: Half of the world population (3.5 billion people) occupies areas where there is an increase of dogs, cats and rodents, and zoonosis transmitted by these animals, where rabies is the most worrisome. The protection of humans against urban rabies is achieved mainly by the prophylaxis of dog and cat with vaccines that induce a minimum of antibody titers (≥ 0.5 IU/mL). This study aimed to evaluate the kinetic of antibodies in dogs that were prime vaccinated with Fuenzalida&Palácios modified vaccine during 12 months. Materials and methods: The study was conducted in 2009 during the 41st Annual vaccination campaign against rabies in dogs and cats in the urban area of Botucatu, São Paulo, Brazil. It was considered to determine the sample size at 95% confidence along an estimation error of the order of 10% random contribution associated with the casual participation of the animal. Thus, the study involved 576 dogs over the age of three months, never vaccinated against rabies before, regardless of breed, age or sex randomly selected for blood collection. Samples were collected during five moments at the study period, which are: 0 (first dose of vaccine), 1 [30 days after first vaccination (dafv) and the second dose of vaccine], 2 (60 dafv), 3 (180 dafv) and 4 (360 dafv). Thirty days after the first vaccination (time 1) dogs received the booster vaccination with the same type of vaccine (Fuenzalida&Palácios modified vaccine- Institute of Technology of Paraná – TECPAR[®]). Serum neutralizing antibodies to rabies was held at the Center for Zoonosis Control of São Paulo through the rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT). Results: Total (urban and rural) of rabies vaccination coverage reached 81.36% in Botucatu / SP, and 329 (16.97%) of dogs in urban were first time vaccinated. At 360 days after first vaccination, only 51.5% of the dogs had protective titers throughout over all period of the study (over 5 moments). Discussion and conclusion: In Brazil, by the Control Program, the canine rabies vaccination is annual and mandatory after three months of age. The low concentration of antibodies after vaccination of dogs against rabies has been reported, also the immune response of dogs with prime vaccination (Fuenzalida&Palácios modified vaccine) without booster was evaluated, where the results observed rapid decline of antibody titers, suggesting that many animals cannot be protected between the campaigns. According to the Institute Pasteur in 2000, titers below 0.5 IU/mL do not confer protection against rabies. In addition, rabies can infect the dogs at any period during the campaigns. The coverage of vaccination shows weak protection, since only 51.5% of dogs had protective titers at all time of moments analyzed. Furthermore, it is also known that half of the dogs prime vaccinated are not immunized against rabies virus after 12 months, the results allow us to infer a new vaccination strategy in dogs prime vaccinated should be adopted.

Acknowledgements This work was supported by the Grant of Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (2009-09098-8). Municipality of Botucatu, Environmental Health Surveillance Department

PT.028**COMPARAÇÃO DA COBERTURA VACINAL DE CÃES E GATOS NAS CAMPANHAS ANUAIS DE VACINAÇÃO CONTRA A RAIVA, NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, PERÍODO DE 2004 A 2012.**

Paranhos NT¹, Bernardi F¹, Silva EA¹, Mendes MCNC¹ – ¹Centro de Controle de Zoonoses da Coordenação de Vigilância em Saúde – Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo

A Campanha de Vacinação Contra Raiva em Cães e Gatos no Município de São Paulo é uma das atividades do Programa de Controle da Raiva desenvolvido desde 1973 pelo Centro de Controle de Zoonoses. A Campanha tem duração de 14 dias e foi descentralizada a partir de 2004, quando passou a ser executada pelos Serviços Regionalizados de Vigilância à Saúde (SUVIS), sob a Supervisão e Coordenação do Centro de Controle de Zoonoses. Com essa estratégia um maior número de postos de vacinação foi disponibilizado. O presente trabalho analisou a cobertura vacinal nos 96 Distritos Administrativos (DA) do Município para os anos 2004 a 2012, com o objetivo de verificar a tendência de cobertura vacinal e se a interrupção da campanha em 2010 e 2011 acarretou em diminuição na vacinação de 2012. Comparando os anos de 2004 e 2009 houve um aumento de 17,23% no total da cobertura vacinal. Em 2008 observou-se uma diminuição de 3,86% do número de cães vacinados e aumento de 7,7% na vacinação de felinos em relação a 2007. Em 2010, a Campanha foi suspensa no seu quarto dia devido à notificação de eventos adversos acima do esperado tendo sido vacinados 24,75% (247.550 animais) do total da meta estimada. No ano de 2012 a vacina voltou a ser disponibilizada e a Campanha foi viabilizada no período de 21 de maio a 3 de junho. Os resultados observados mostraram um decréscimo de 16,6% no número total de animais vacinados em relação a 2009, sendo a diminuição de 21,18% para cães e um acréscimo 2,27% para gatos. Observou-se aumento de felinos vacinados em 42 DAs quando se comparou 2012 e 2009, sendo 31 destes pertencentes a áreas de maior exclusão (áreas homogêneas 4 e 5). Nos DAs Iguatemi, Pedreira, Pêrus e Jaçanã a vacinação de felinos foi respectivamente 21,23%, 31,41%, 38,3% e 40% superior a 2009. Houve diminuição de cobertura vacinal de gatos em 53 Distritos de áreas de maior inclusão como Tatuapé, Santa Cecília, Saúde e Santana. Em relação à vacinação de cães, em 2012 houve um decréscimo em geral, sendo que em 29 DAs a vacinação foi inferior a 70% do total de 2009. Somente os DAs Marsilac, Vila Curuçá e Bela Vista vacinaram mais cães do que em 2009. Observa-se uma tendência anual de crescimento na cobertura vacinal do município, sendo mais evidente em felinos. Com a suspensão da campanha por dois anos consecutivos, verificou-se um decréscimo no total de animais vacinados em 2012. Sugere-se estudos periódicos de estimativa das populações canina e felina a fim de se avaliar a relação entre número de animais vacinados e população de cães e gatos.

PT.029**AN EXPLORATION OF THE KNOWLEDGE, ATTITUDES AND PERCEPTIONS OF NON-MEDICALLY TRAINED, ADULT GRENADIANS ABOUT ZONOTIC DISEASES**

Bidaisee S¹ – ¹St. George's University – Department of Public Health and Preventive Medicine

Whether people own dogs, cats, birds, reptiles, rabbits or fish, they need to be aware that domestic animals can have an effect on their health by transmitting certain diseases. Animal diseases, that are zoonotic diseases, are those naturally transmitted from vertebrate animals to humans. The aim of the

research was to explore the perceptions of the local Grenadian public about their knowledge towards certain zoonotic diseases. In Grenada, there are known reservoirs for zoonotic diseases in the form of rabies from stray dogs and mongoose. Rabies is a fatal viral disease that infects the brain and spinal cord in mammals including humans. The virus is transmitted through the saliva of a rabid animal, usually by a bite. The study population comprised adults, non-health professional, Grenadian citizens in the parish of St. George. A total of 450 participants comprised the sample base for the collected data. Rabies was correctly identified as being caused by a virus among 28.4% of the sample population. Rabies as obtained from the bite of an infected animal was correctly identified by 434 (96.4%) of participants. Knowledge of the mongoose as the animal reservoir of Rabies in Grenada was correctly recognized by 434 (96.4%) of the participants. Rabies prevention, requiring vaccination of animals, was identified by 339 (75.3%) of the study population. For Rabies, 20 (4.4%) of the population selected nervous reactions as the associated symptom.

PT.030

RABIES ANTIGEN SPREAD AMONGST APPARENTLY HEALTHY DOGS IN NIGERIA: A REVIEW

Ogunkoya AB¹, Aina OA², Adebayo OO³, Oluwagbenga AA⁴, Tirmidhi AB⁵, Audu SW⁶, Atuman YJ⁷, Babasola OO³, Garba A⁷ – ¹Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria – Veterinary Medicine, ²Department of Zoology, Faculty of Science, University of Ibadan, Ibadan, Oyo State, Nigeria – Zoology, ³Department of Veterinary Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ibadan, Ibadan, Oyo State, Nigeria – Veterinary Public Health and Preventive Medicine, ⁴Department of Virology, College of Medicine, University of Ibadan, Ibadan, Oyo State, Nigeria – Virology, ⁵Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agric, Taraba State University, Jalingo. – Animal Sciences, ⁶Dept. Vet. Surgery & Med, Fac. Vet. Med. Ahmadu Bello University, Zaria-Nigeria – Veterinary Medicine, ⁷Diagnostic and Extension Dept, National Veterinary Research Institute, Vom- Nigeria – Diagnostic and Extension

Rabies with a timeline history of over 2300 years BC is 100% preventable. Yet over 55,000 people are reported dead annually due to rabies. Most of the deaths are in the developing countries, India and Africa. In Nigeria, the first officially documented report of human rabies was in 1912 and that of canine rabies was in 1925. The long history of rabies and the evidences of its endemicity have been found in all native dialects in Nigeria that described only the violent rabies. Researchers over the years have reported the presence of rabies virus antibodies in over 15.93 to 30.7% of unvaccinated dogs and humans respectively, in south western part of Nigeria. Of recent, researchers in Nigerian Universities and Research Institutes are experiencing and reporting cases of the presence of rabies virus antigen in the brains of apparently healthy dogs and even in the wild life across the country. Some studies of the prevalence of rabies antigens in the brain and saliva of apparently healthy dogs slaughtered for human consumption in Nigeria; revealed a 28% consumed dogs in N/west, 31% – 44% from N/east and 24% from N/central tested positive for rabies antigen in their brain. Similarly, 6%-8% of the dogs had rabies antigen in their saliva at the point of slaughter. In wildlife brain tested for rabies antigen revealed prevalence in mongoose to be 11%, jackals 9%, squirrels 8.3%, hyrax link 17% and wild cats 16%. The intent of this review is to bring into focus the prevailing carrier status of high percentage of Nigerian dogs and wildlife and its possible consequences on human before the rabies interest groups of the international community. This is with a view to open facets for discussion and understanding the epidemiology of rabies and to seek for further collaboration on the

situation of rabies in Nigeria. It may necessitate drawing new protocol for human prophylaxis following bite from apparently healthy dogs. **Key words:** Rabies antigen spread, Apparently healthy dogs, Nigeria.

PT.031

DISCUSSING THE RABIES SURVEILLANCE SYSTEM IN BRAZIL: AN EXPERIENCE OF SURVEILLANCE TOWARD BATS AFTER THE HALT OF MASS VACCINATION OF DOGS AND CATS IN CAMPINAS, SAO PAULO

Dias RA¹, De Lucca T², Rodrigues RCA³, Castagna C³, Presotto D³, De Nadai DV³, Fagre A⁴, Braga GB⁵, Guilloux AGA⁵, Alves AJS⁵, Martins CM⁵, Ferreira F⁵ – ¹Universidade de Sao Paulo – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, ²Prefeitura de Campinas – Vigilância Sanitária Norte, ³Prefeitura de Campinas – Centro de Controle de Zoonoses, ⁴Colorado State University, ⁵Universidade de São Paulo – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Bats are less vulnerable to forest fragmentation than any other mammal, and for that reason, some species can disperse to peri-urban or urban areas. Insectivore bats are abundant in urban areas due to the density of artificial roosts and insects attracted by city lights. Inter-species transmission of the rabies virus between bats can occur, and this is the most probable mechanism of virus circulation in bat populations. Bats can also transmit the rabies virus to other mammal species, like dogs and cats. With the halt of vaccination campaigns of dogs and cats in 2010, the importance of rabies surveillance in bats has increased in Brazil. In Campinas, Sao Paulo State, a passive surveillance system for bats was implemented in 1994 and rabies-positive bats from the families Molossidae, Phyllostomidae and Vespertilionidae were found in a peri-urban area. In these areas, a vaccination blockage in dogs and cats was recommended after the halt of the massive vaccination campaign in 2010. This control strategy was able to increase the proportion of vaccinated animals above a critical value while in the rest of the study area it did not. The probability of infectious contact between bats and dogs or cats was higher in the blockage areas, evidencing the importance of the implementation of control measures.

PT.032

RABIES IN NIGERIA: A NEW PARADIGM SHIFT?

Jahun BM¹, Ehimiyein AM², Audu SW², Orasetin AT³, Adawa DAY¹ – ¹Ahmadu Bello University Zaria – Veterinary Teaching Hospital, ²Ahmadu Bello University Zaria – Veterinary Medicine, ³Ahmadu Bello University Zaria – Veterinary Public Health and Preventive Medicine

Rabies is an infectious disease of the central nervous system (CNS) that kills over 50,000 people each year. The prevalence rate is between 15-20% in Nigeria, however, because of the problem with reporting, the true picture is difficult to obtain. Most of the cases are from the rural areas and are not reported to the relevant authorities. Recent survey of dog brain from dog market across three states showed an increase in the prevalence of rabies up to 54% from Kaduna State, 50 from Abuja while Plateau State had 58% prevalence. In addition, the emergence of asymptomatic rabies which after several mouse inoculations will kill the mice without showing clinical signs of rabies is case of concern. This paper demonstrates the public health significance of the observed high rabies prevalence and the dangers of having asymptomatic rabid dog in the society.

PT.033**RAIVA HUMANA TRANSMITIDA POR SAGUI-IPÚ/CE-BRASIL-2010**

Duarte NFH¹, Pinheiro KMA¹, Rolim BN², Targino LMF¹, Almeida IL¹, Duarte BH³ – ¹SESA-CE – Nuvet, ²SESA-CE – LACEN, ³UFERSA – FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

Introdução: A raiva é uma doença considerada de alta relevância no âmbito da saúde pública, causa grandes prejuízos econômicos, possui alto poder de letalidade. No Brasil, nos anos de 1990 a 2010, houve 575 casos de raiva humana, destes 325 (56,52%) foi na região Nordeste, sendo responsável pelo maior número de casos, no Ceará um total de 44(13,53%). Destes, 12(27,27%) dos casos a transmissão foi por animais silvestres, saguis *Callithrix jacchus*, aumentando a preocupação ainda mais com esta espécie, já que as pessoas tem o hábito de capturar e criar esses animais, sem ter a menor noção do risco. Desde o ano de 2004, houve uma mudança no perfil epidemiológico da raiva, considerando uma redução da raiva urbana e um aumento no ciclo silvestre.

Objetivos: relatar um caso de raiva humana em Ipu/CE no ano de 2010 e as ações desenvolvidas. **Material e Métodos:** Os dados obtidos foram através de investigação epidemiológica, Ministério da saúde SVS, Unidade de laboratório Animal-UNILAN, Sistema de informação de agravos de Notificação – SINAN. **Resultados:** Ipu fica a 257 km de Fortaleza, com uma população de 40.300 habitantes IBGE 2010. Ao passar perto de uma árvore, uma criança de 11 anos foi agredida no rosto por um sagui, apesar da gravidade da lesão, não foi iniciado nenhum tratamento. Após 60 dias, 16/11/2010, com início dos primeiros sintomas: dor de cabeça, febre, cansaço, sonolência, falta de apetite, a criança foi levada ao hospital e tratada de enxaqueca. No dia 17/11/2010 deu-se início a um quadro convulsivo, ficando internado por três dias. Os exames ante morte realizados pela técnica RT-PCR dos materiais: saliva, folículo piloso, liquor foram negativos para raiva e o título de anticorpos igual a 0,02UI/ml. No dia 26/11/11 o garoto foi a óbito e o resultado pós – morte foi positivo para raiva pela técnica de IFD. Foram realizadas palestras educativas e apresentação de vídeos sobre raiva para alunos do ensino fundamental e médio (1341), professores e diretores, população, treinamento sobre raiva para profissionais do PSF, busca ativa de expostos com identificação de 13 pessoas agredidas (mão, pé e rosto). Dose por sagui e um por cão, desses apenas dois havia iniciado o tratamento, os demais iniciaram somente após orientação, recolhimento de nove animais (saguis) mantidos em cativeiro com realização de coleta de sangue e saliva para diagnóstico da raiva com o resultado negativo. **Conclusão:** Apesar de existir todas as ferramentas para o controle da doença, ainda morrem pessoas vítimas de raiva. É necessário que haja fortalecimento das ações de vigilância, atendimento das pessoas agredidas em tempo oportuno, fiscalização e aplicação de leis em relação à captura e criação dos animais silvestres, integração, sensibilização da população em relação ao risco que os animais silvestres oferecem e que o lugar deles é no seu habitat natural.

PT.034**DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA RAIVA EM OLINDA PERNAMBUCO – POSITIVIDADE PARA RAIVA EM MORCEGO NÃO HEMATÓFAGO**

Machado JL¹, Araújo ACR², Ribeiro MGB³, Silva LAM⁴, Oliveira JCT⁵, Gomes ES⁶, Boller MAA⁷ – ¹LACEN – PE, ²LACEN/PE / LANAGRO/PE, ³Universidade Federal de Pernambuco, ⁴GEMNE, ⁵UFPE/CAV / GEMNE, ⁶Secretaria Municipal de Saúde de São José do Egito, ⁷Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – Imunologia

A cidade de Olinda, localizada na Nordeste do Brasil, distante 6 km de Recife, a Capital Pernambucana, tem como principal característica, o pólo turístico. A população é estimada em 375.559 habitantes. A cidade alta de Olinda é formada por extensa área verde, o que proporciona a presença e a permanência de quirópteros. No mês de Abril de 2012, foi encaminhada para o diagnóstico da raiva, um quiróptero da espécie *Molossus molossus*, fêmea, adulta. Segundo as informações coletadas no Formulário Único de Requisição de Exames para Síndrome Neurológica, o morcego foi encontrado em uma residência no Bairro Amaro Branco e apresentava incoordenação e alteração comportamental. O proprietário da residência confirmou que não houve agressão ou contato com o animal, que veio a óbito. A prova de Imunofluorescência Direta diagnosticou positividade para o vírus para raiva, o que foi confirmada na Prova Biológica. Podemos entender que o crescimento desordenado e o desmatamento podem corroborar com o aumento de casos de morcegos positivos para a raiva. A vigilância por sua vez, se faz necessária para que haja o controle epidemiológico eliminação da doença através do monitoramento do vírus rábico na região através do envio de amostras de animais suspeitos, para o diagnóstico. No Nordeste, mais precisamente na Cidade de Floresta, Sertão Pernambucano, um garoto de 14 anos foi agredido por um morcego hematófago e infectado pelo vírus da raiva em outubro de 2008. O protocolo utilizado foi uma adaptação do Protocolo de Minwalker, e desta forma foi criado o Protocolo de Recife. O caso Marciano, como ficou conhecido, foi o segundo no mundo de cura da raiva, porém com sequelas. A partir daí, as autoridades sanitárias intensificaram a vigilância na tentativa de evitar que outros episódios sucedam. O fato ocorrido em Olinda alerta as autoridades sanitárias para o risco de contrair a raiva, através de espécies de quirópteros inclusive não hematófagos. A educação ambiental para a população em geral, se faz necessária para que as espécies sejam presevadadas em função da sua importância no meio ambiente, mas, que sejam observadas as orientações e recomendações relacionadas à presença destes animais.

PT.035**A IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO SOROLÓGICA PARA RAIVA E A IMPLANTAÇÃO DA TÉCNICA NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Araujo ACR¹, Machado JLM², Ribeiro MGB³, Silva LAM⁴, Oliveira JCT⁵, Gomes ES⁶, Boller MAA⁷ – ¹LACEN/LANAGRO-PE – DIAGNÓSTICO DE RAIVA, ²LACEN/LANAGRO-PE, ³LANAGRO/PE, ⁴Grupo de Estudos de Morcegos no Nordeste (GEMNE), ⁵UFPE/CAV/GEMNE, ⁶Secretaria Municipal de Saúde de São José do Egito – Vigilância Sanitária, ⁷Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – Imunologia

A Raiva Humana está na Lista Nacional de Compulsória Imediata – LNCI ANEXO II – 13. Raiva Humana; PORTARIA N.º 2.472, DE 31 DE AGOSTO DE 2010 (DOU de 1º/09/2010 Seção I pág. 50), que define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005 (RSI 2005), a relação de doenças, agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória em todo o território nacional e estabelecer fluxo, critérios, responsabilidades e atribuições aos profissionais e serviços de saúde. A Organização Mundial da Saúde considera que um título igual ou superior a 0,50 UI/mL representa um estado imunitário suficiente para proteger indivíduos expostos ao risco de contaminação pelo vírus rábico. A determinação dos anticorpos neutralizantes (AcN), deve ser realizada em indivíduos previamente imunizados e expostos ao risco de contrair a raiva. A profilaxia vacinal pré-exposição é indicada para pessoas que, por força de suas atividades estejam expostos permanentemente ao risco de infecção pelo vírus rábico. Todos

os indivíduos pertencentes aos grupos de risco que freqüentemente estão em contato com o vírus rábico devem ser avaliados a cada seis meses. O Instituto Pasteur, no Estado de São Paulo, referência Nacional para a soroneutralização dentre outras técnicas, desenvolveu um teste simplificado de inibição de focos fluorescentes – SFIMT- que vem sendo utilizado para avaliação sorológica para raiva. Neste sentido, o Laboratório Central – LACEN/PE, vem através do apoio e da parceria com o Instituto Pasteur, realizando treinamentos com profissionais do Estado de Pernambuco, com o objetivo de implantar a técnica que favorecerá o monitoramento de profissionais envolvidos com o vírus rábico na Região que atuam na área de saúde animal tais como, Médicos Veterinários, Médicos Sanitaristas, agentes de endemias, agentes ambientais nos mais variados ambientes de trabalho tais como: diagnóstico e campo capturando, vacinando, identificando e classificando animais passíveis de albergar o vírus, dentre outros profissionais que estão expostos ao vírus. No Estado de Pernambuco, mais precisamente na Capital, Recife, de acordo com o levantamento dos Centros de Controle de Zoonoses, a demanda para determinação dos anticorpos neutralizantes (AcN), é de 4.000 amostras/ano. A importância da implantação da Técnica de dosagem de anticorpos anti-rábicos humano no Estado, vem no momento em que, a Vigilância e o controle da raiva em Pernambuco são prioridades no que se trata de Vigilância Epidemiológica. Com a crescente demanda desta avaliação sorológica, a implantação da técnica no LACENPE, promoverá a otimização do diagnóstico, facilitará maior dinâmica no que diz respeito ao tempo de resposta do diagnóstico, ao custo benefício, e principalmente a profilaxia da raiva humana em nossa Região. Agradecimentos Ao Instituto Pasteur, Dra Neide Yumie Takaoka, Dra Ivanete Kotait e Dra Maria Luiza Carrieri que vem contribuindo de forma incansável na construção deste Trabalho.

PT.036 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE VÍRUS DA RAIVA DE ISOLADOS HERBÍVOROS PROCEDENTES DO NORTE DO BRASIL

Peixoto HC¹, Garcia AIE², Silva SOS², Ramos OS³, Silva LP³, Brandão PE², Richtzenhain L² – ¹FMVZ USP – Veterinary Preventive Medicine and Animal Health, ²FMVZ USP – Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, ³Laboratório Nacional Agropecuário, LANAGRO, Pará

A Raiva é uma zoonose com 100% de letalidade que acomete todos os mamíferos, é impossível estimar os custos reais de perdas na pecuária, principalmente pelo elevado número de subnotificações. As ferramentas moleculares permitem identificar as linhagens virais circulantes e associar essas linhagens à origem geográfica. Foram analisadas 17 amostras isoladas de bovino (11), equídeo (4) e bubalino (2), no período de 2004 a 2008, procedentes dos Estados do Pará, Tocantins e Rondônia. As referidas amostras foram submetidas a RT-PCR tendo como alvo um segmento do gene da glicoproteína, referente a um fragmento de 917pb. Os amplificadores obtidos foram purificados e sequenciados, o dendrograma foi gerado utilizando-se critério de otimização de distância com algoritmo Neighbor-Joining e modelo evolutivo Kimura 2- parâmetros, empregando-se 1000 repetições de bootstrap. A análise espacial dos isolados investigados no presente estudo foi elaborado, a partir de mapas retirados do IBGE, com auxílio do programa ArcGis versão 9.3. Todas as 17 amostras de vírus da raiva foram geneticamente agrupadas dentro do cluster de *Desmodus rotundus*. Dentro desse cluster os isolados do presente estudo se agruparam em seis subgrupos principais: subgrupo I, composto por isolados oriundo de Tocantins e um isolado proveniente da mesoregião sudeste do Pará; subgrupo II, composto de isolado bovino procedente de Tocantins, agrupou-se com isolados de *Desmodus rotundus* e *Diphilla ecaudata* originários de São Miguel Tapuio no Piauí; subgrupo

III, formado por isolados originários de Tocantins e um isolado procedente de Goiás; subgrupo IV, composto por isolados de diversas localidades de Tocantins; subgrupo V, formado por amostras oriundas de diversas localidades de Rondônia, as quais apresentaram similaridade com isolados procedentes de Goiânia e São Paulo; subgrupo VI, composto por isolados procedentes do Nordeste Paranaense e isolados de surtos de raiva humana ocorridos no Maranhão. A filogenia demonstrou que todas as linhagens virais dos isolados do presente estudo estão relacionadas à região geográfica. Suporte Financeiro: CAPES

PT.037 SÉRIE HISTÓRICA DO ATENDIMENTO ANTI-RÁBICO HUMANO – UMA ANÁLISE DAS NOTIFICAÇÕES NA 19ª CRS – FREDERICO WESTPHALEN RS.

Dornelles M¹ – ¹19ª Coordenadoria Regional de Saúde – Vigilância Ambiental em Saúde SÉRIE HISTÓRICA DO ATENDIMENTO ANTI-RÁBICO HUMANO – UMA ANÁLISE DAS NOTIFICAÇÕES NA 19ª CRS – FREDERICO WESTPHALEN RS. Vargas J C A¹, Dornelles M L², Bagatini T³ ¹Vigilância Epidemiológica ✉ E-mail: jeanine-vargas@saude.rs.gov.br ²Vigilância Ambiental em Saúde ✉ E-mail: mauro-dornelles@saude.rs.gov.br ³Imunizações ✉ E-mail: imunizacao¹⁹@saude.rs.gov.br

Introdução: O Atendimento Anti-Rábico Humano, é um dos Agravos de maior notificação nos municípios da área de abrangência da 19ª CRS. A 19ª CRS é constituída por 28 municípios, localizada na região do médio alto uruguaí, sendo Frederico Westphalen o município sede da 19ª CRS. O Atendimento Anti-Rábico Humano ocorre em diversos períodos do ano, após as pessoas sofrerem agressões principalmente por cães e gatos, necessitando a utilização de vacina e soro anti-rábicos para a prevenção da raiva. **Objetivos:** Conhecer o perfil epidemiológico dos atendimentos através da avaliação de alguns aspectos do Atendimento Anti-Rábico Humano na 19ª CRS de 2007 a 2011. Tomar medidas preventivas, buscando a diminuição do número de doses de vacinas, através da correta observação do animal agressor, bem como da correta indicação do imunobiológico. **Métodos:** Foi realizado um estudo observacional descritivo de análise quantitativa, analisando as informações contidas no Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), no período de 2007 a 2011, da ocorrência nos municípios pertencentes a 19ª CRS. No período foram notificados no SINAN 1822 casos de Atendimento Anti-Rábico Humano. **Resultados:** Dos 1822 casos de Atendimento Anti-Rábico Humano 54,9% foram do sexo masculino, sendo 50,8% moradores da zona urbana, em 94,4% a espécie agressora foi o cão, a condição do animal para fins de conduta do tratamento em 86,2% eram sadios, 94,7% dos animais eram passíveis de observação, sendo que 53,1% do tratamento indicado foi observação + vacina, sendo 3019 doses de vacinas aplicadas no período. **Conclusões:** Aumento no número de Notificações, bem como a quantidade de Vacinas utilizadas, tem levado a Vigilância em Saúde da 19ª CRS a investir na sensibilização de profissionais de saúde e entidades direta e indiretamente envolvidas, através de cursos de capacitação em sala de vacinas, salientando para que nos municípios haja profissionais que efetivamente realizem a correta observação do animal agressor bem como a correta indicação do imunobiológico, diminuindo as doses de vacinas utilizadas, considerando a atual ausência de circulação de vírus rábico em populações de caninos domésticos no Rio Grande do Sul. **Bibliografia:** ARAÚJO, F.A. A Situação da Raiva no Brasil. In: Seminário Internacional da Raiva, 2000. p. 22. ATLAS de Saúde do Brasil, Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2004. GUIA de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002. 920 p. Manual de Normas de Vacinação. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002.

PT.038**REDUÇÃO DA EXPOLIÇÃO E DO RISCO DE OCORRÊNCIA DA RAIVA EM HERBÍVOROS PELO CONTROLE POPULACIONAL DE *DESMODUS ROTUNDUS* NA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.**

ROMIJN PC¹, Bruno LM de P², Carneiro I de C, Bruno AM de P², Cattaneo CAM, Rubião EC, Kimura LMS³ – ¹PESAGRO-RIO – Centro Estadual de pesquisa em Sanidade Animal, ²SEAPEC, ³PESAGRO-RIO

A prevenção da difusão de enfermidades infecto-contagiosas pelo controle populacional dos transmissores/vetores é uma prática secular de comprovada eficácia, seja aplicada a roedores, carnívoros, invertebrados e pragas de vegetais. Para reduzir ao máximo a exposição de herbívoros à espoliação por morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* e conseqüentemente, ao risco de infecção por *Lyssavirus*, foram identificados abrigos com colônias de morcegos hematófagos, e estes monitorados semestralmente, com capturas e controle populacional eventuais, em três microbacias do Estado do Rio de Janeiro. Verificou-se que na microbacia de Miracema, os casos de Raiva transmitidos por *D. rotundus* foram se reduzindo a partir de 1995, quando foi iniciado o monitoramento dos abrigos e controle populacional da espécie. No intervalo de 36 meses (anos de 2005 a 2007) em que não houve controle populacional, os casos de Raiva em herbívoros tornaram a se elevar. Verificou-se que o repovoamento dos abrigos monitorados levava de 2 a 5 anos. Na microbacia envolvendo o município de Aperibé, o monitoramento dos abrigos e eventual controle populacional por 30 meses coincidiu com a ausência de Raiva em herbívoros ao longo de 5 anos (de 1996 a 2000). Também não foram notificados/diagnosticados casos de Raiva em herbívoros durante o monitoramento dos abrigos e eventual controle populacional, realizado por 30 meses nos municípios de Três Rios e Sapucaia. Conclui-se que o controle populacional de *D. rotundus* por técnicos experientes reduziu substancialmente o contato direto dos morcegos com animais domésticos susceptíveis nas microbacias trabalhadas, e conseqüentemente o risco de infecção quando da presença de *Lyssavirus* na saliva dos morcegos. Enquanto era realizado o controle populacional bianual de *D. rotundus* nos três ambientes distintos e isolados, não foram diagnosticados casos de Raiva em herbívoros domésticos ao longo dos períodos de monitoramento. Em não se realizando o controle populacional durante um mínimo de 48 meses, casos de Raiva em herbívoros passaram a acontecer nesses ambientes sob estudo. Em nenhum dos *D. rotundus* examinados foi encontrado *Lyssavirus* na saliva pela IFD, nem anticorpos específicos contra a virose no soro de 163 indivíduos examinados. É imprescindível ampliar a discussão quanto ao significado epizootico da detecção de anticorpos contra antígenos de *Lyssavirus* em mamíferos silvestres, e a possibilidade destes estarem infectados sem apresentação de quadro clínico (“portadores assintomáticos”).

PT.039**FATORES ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE RAIVA EM REGIÃO RURAL DE CAMPINAS/SP/BRASIL EM 2.001 e 2.002.**

Ramos LHM¹, Donalísio MR², Lourenço RW³ – ¹Prefeitura Municipal de Campinas – Secretaria Municipal de Saúde, ²UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas/Faculdade de Ciências Médicas – Departamento de Saúde Coletiva, ³UNESP – Universidade Estadual Paulista/Faculdade de Engenharia Ambiental

A raiva é uma zoonose de etiologia viral, com alta taxa de letalidade e ocorrência em bovinos e equídeos, que causa prejuízos sociais e econômicos, tendo como transmissor o morcego *Desmodus rotundus*. Em área rural do município de Campinas estado de São Paulo, foram registrados 29 casos de raiva

confirmados laboratorialmente em herbívoros, em 2001 e 2002. Técnicos da Secretaria de Saúde e da Agricultura realizaram um trabalho intenso e conjunto na prevenção da raiva animal e humana na região. O objetivo deste estudo é descrever o perfil epidemiológico da epizootia e analisar variáveis associadas aos óbitos na área de ocorrência. Foi realizado estudo transversal com a aplicação de questionário a 730 proprietários e moradores de imóveis da área, sendo que 5 propriedades não foram incluídas. As variáveis coletadas foram: espécie animal acometida, óbitos na propriedade nos últimos 6 meses, existência e tipo de abrigos de morcegos hematófagos, número de pessoas expostas ao vírus. Foram calculados coeficientes de mortalidade por raiva por espécie animal por 1000 indivíduos. Foi ajustado modelo de regressão logística múltipla, tendo como variável resposta a ocorrência de óbitos por raiva, e variáveis predictoras as acima referidas, utilizando-se os programas EPI-INFO 6.04 e, R para digitação e análises estatísticas. O coeficiente de mortalidade (CM) total foi de 2,3/1000 animais (n = 8230), em equídeos foi 17,9/1000 e em bovinos 1,97/1000. Em 81(11,1%) das propriedades foi referida a existência de abrigos de morcegos, sendo 27 (46,6%) do tipo árvore, 25 (43,1%) construção habitada e 6 (10,34%) construção abandonada. Foram contabilizadas 1278 pessoas que lidavam com os animais, sendo que 38 exerciam atividades nas propriedades com óbitos, portanto expostos diretamente ao risco de raiva humana. As variáveis estatisticamente significantes associadas aos óbitos obtidas no modelo foram: existência de abrigos de morcegos hematófagos na propriedade (OR = 3,2 IC 95% 1,03 – 9,91) e a ocorrência de óbitos em animais nos últimos 6 meses (OR = 32,64 IC 95% = 9,11 – 116,90). A análise de CM por espécie animal pode trazer informações relevantes na região. Observou-se o CM em equídeos 9 vezes maior que o de bovinos na área, diferente de dados da literatura. O estudo desta epizootia mostra o potencial de ocorrência em humanos vivendo e trabalhando nas proximidades dos casos em animais. A referência de mortes de animais em período recente (6 meses) foi preditora de raiva, sugerindo a circulação prévia do vírus e a falta de conscientização dos proprietários em manterem os animais vacinados. A associação entre a raiva animal e presença de morcegos tem sido relatada em outros estudos, reforçando a necessidade de monitoramento de colônias de morcegos em área rural. As ações de vigilância epidemiológica, educação em saúde e profilaxia animal e humana pressupõem ações intersetoriais de relevância para a prevenção e controle da raiva humana e animal.

PT.040**DIAGNÓSTICO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE VIRUS RÁBICO EN MUESTRAS EN AVANZADO ESTADO DE DESCOMPOSICIÓN**

Beltrán F¹, Gury Dohmen F¹, Del Pietro H², Cisterna DM³ – ¹Instituto de Zoonosis Luis Pasteur – Diagnóstico, ²Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria – Programa Nacional de Rabia Paresiente, ³INEL-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán – Servicio de Neurovirosis, Buenos Aires, Argentina

En Argentina existe una Red de Laboratorios Regionales de rabia que realizan el diagnóstico de rutina en animales a partir de muestras de cerebro mediante inmunofluorescencia directa (IFD) y aislamiento mediante ensayo biológico en ratones lactantes (EBRL). Las contramuestras de los positivos y/o los aislamientos de RABV se envían al Laboratorio Nacional de Referencia que es el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) o al Instituto de Zoonosis Luis Pasteur (IZLP) perteneciente al Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (GCABA), para identificar la especie reservorio usando un panel de anticuerpos monoclonales (caracterización antigénica). La toma, conservación y transporte adecuados de las muestras y/o aislamientos son factores decisivos para

la correcta realización e interpretación de estos ensayos. Las elevadas temperaturas, como las que se registran en las provincias del norte de Argentina, pueden ocasionar el deterioro de los cadáveres de los animales investigados, provocando que las muestras de cerebro presenten desde una licuefacción leve hasta un avanzado estado de descomposición. Estas condiciones afectan la sensibilidad de las pruebas diagnósticas dado que provocan la degradación de la estructura viral y la producción de toxinas bacterianas. Asimismo, si los aislamientos de RABV no se conservan a muy bajas temperaturas (-70°C), pierden rápidamente su viabilidad lo que ha provocado la pérdida de muchas colecciones de RABV en laboratorios que carecen de la infraestructura adecuada. Se evaluó una técnica de RTPCR de un paso para el diagnóstico y caracterización molecular en muestras de tejido cerebral en avanzado estado de descomposición y en aislamientos antiguos. Se tomó un grupo de 10 cepas de rabia aisladas en cerebro de ratón lactante, de las variantes de mayor circulación en nuestro país, 3 cerebros caninos expuestos a descomposición controlada y 14 cepas antiguas. La caracterización antigénica se realizó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta usando un panel de 19 anticuerpos monoclonales (CDC, USA). La caracterización molecular de una región de 159 nucleótidos correspondiente al gen de la nucleoproteína fue analizada y se confeccionó un árbol filogenético. La caracterización antigénica y molecular se correspondió en todos los aislamientos. En este estudio pudo efectuarse la caracterización molecular de los aislamientos de mayor circulación en Argentina, en muestras en avanzada descomposición y en cepas antiguas en forma directa, con una técnica que utiliza una pequeña porción del gen de la nucleoproteína viral en el 100% de las muestras.

PT.041 ANTIGENIC VARIANTS OF RABIES VIRUS IN VENEZUELA. 2000-2012

PEREZ M¹, HIDALGO M¹, BOYER L¹ – ¹National Institute of Agricultural Research (INIA) – Rabies Laboratory

Rabies is a fatal zoonotic disease, caused by the rabies virus, the prototype of the genus *Lyssavirus* of the *Rhabdoviridae* family, with a single-stranded negative-sense RNA genome, surrounded by a bullet shape capsid. In Venezuela for many years rabies has occurred in endemic and epidemic form, constituting a socioeconomic problem that affects human health and causes losses in livestock. It is distributed throughout the country. The detection of rabies antigen and antigenic characterization of field strains allowed the identification of animal species that serves as a reservoir responsible for an outbreak of rabies in a given area. The aim of this study was to perform the antigenic characterization of 34 fields isolates of rabies virus from different animal species, states and years, to know which antigenic variants were circulating in our country. The detection of rabies antigen was performed by direct immunofluorescence test of nerve tissue imprints of animals with symptoms of the disease. The viral amplification was performed by inoculation in suckling mice. Antigenic characterization was performed by indirect immunofluorescence impressions brains of mice inoculated with field strains that had obvious symptoms of the disease. Only variants 1 and 3 were found. It was concluded that the antigenic variant 1 (canine) was located exclusively in Zulia State, while variant 3 (vampire) was present in several states, so the common vampire bat *D. rotundus* was the main transmitter of rabies for livestock in that period. **Acknowledgement:** National Institute of Agricultural Research (INIA), National Institute of Integral Agricultural Health (INSAI). **Funding:** INIA. DeMattos C. OMS pg 30(1989). Hidalgo M. Rev. Fac. Cs Vets UCV 46:33. (2004) Hidalgo M. Rev. Fac. Cs. Vets. UCV. 49(2):121.(2008). Meslin FX WHO 476p (1996). Hidalgo M. Med.Vet al día. 1:19 (2011).

PT.042 EXPERIMENTAL ANTIVIRAL THERAPY AGAINST DIFFERENT RABIES VIRUS LINEAGES USING TRANSFECTION WITH ANTI-RABIES ANTIBODIES

Castilho JG¹, Batista HBCR¹, Rodrigues AC¹, Carnieli Jr P¹, Oliveira RN¹, Silva ACR², Caporale GMM², Carrieri ML¹, Kotait I¹, Brandão PE³ – ¹Instituto Pasteur – Virologia, ²Instituto Pasteur – Imunologia, ³Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

The aim of this study was to develop a new mechanism for antiviral therapy against rabies based on the introduction by transfection with a cationic reagent (lipofectamine 2000) of antibodies into neuronal cells infected with the rabies virus. N2A cells were infected using 96-well plates and different viral concentrations (0.1, 1.0, 10 and 100 TCID₅₀) of three lineages of rabies virus circulating in Brazil (dog, *Desmodus rotundus* and *Eptesicus furinalis*). After incubation for 24 h, the cells were transfected with antirabies- virus polyclonal antibodies and lipofectamine 2000. These cells made up the treatment group (TG). The cells in the negative control group (CG) were treated with only Minimum Essential Medium. After 11 hours, the plates were fixed with 80% acetone and analyzed by direct immunofluorescence using a fluorescein isothiocyanate-conjugated antinucleocapsid rabies antibody. The effectiveness of the transfection and subsequent neutralization of the virus was determined by calculating the percentage inhibition of fluorescent foci. This was done by measuring the difference in the number of fluorescent foci in the two groups (CG and TG). The results show that for lower viral concentrations (0.1 and 1.0 TCID₅₀), viral inhibition was 100% for all the lineages tested. When higher virus concentrations were used (10 and 100 TCID₅₀), inhibition varied according to the viral load and lineage of rabies virus used. With an infectious dose of TCID₅₀, inhibition varied from 82.7% to 100% for the lineages tested. With a 100 TCID₅₀ dose, inhibition was 90.7% for the *D. rotundus* lineage, 90.3% for the dog lineage and 67.0% for the *E. furinalis* lineage. It can be concluded from these results that, irrespective of the viral load the patient is exposed to, transfection with antibodies is an efficient mechanism for use in antiviral therapy against rabies in cases where the transmitter is the hematophagous bat *D. rotundus* or the dog as inhibition only varied from 89.2% to 100% when these lineages were used. However, if the patient has been exposed to the lineage associated with the insectivorous bat *E. furinalis*, inhibition varies with viral load. These findings show that transfection with antibodies is a promising mechanism that could be used to develop an antiviral therapy against rabies. Further studies are required to assess the efficiency of transfection with antibodies *in vivo*. Financial Support: FAPESP

PT.043 CLASSIFICATION AND POSITIVITY RATE OF BATS RECEIVED FOR RABIES DIAGNOSIS

Lima JYO¹, Scheffer KC¹, Achkar SM¹, Kotait I¹, Carrieri ML¹ – ¹Instituto Pasteur

The diversity of bat species in Brazil is great, and there are 172 species distributed among nine families. The *Phyllostomidae* family is the most numerous, followed by *Vespertilionidae* and *Molossidae*. According to feeding habits, the majority of bats are insectivorous, followed by frugivorous, nectarivorous, carnivorous and hematophagous. As these animals are considered reservoirs of rabies virus it is essential to correctly identify the species and knowledge of the

biology, behavior and adaptation of bats in urban environments. The objective of this study was to identify the several specimens of bats received for rabies diagnosis at the Pasteur Institute, meet the positive index of them and assess their distribution on the feeding habits in relation to the seasons. In the period between January and December 2011, specimens of bats were received for the rabies diagnosis and submitted to identify the family, genus and/or species, according to identification keys, journals and scientific books. We also recorded the feeding habits and month of capture of animals. The period of this study was divided according to the seasons. During this period, 2846 specimens of bats were identified, being 77.6%, 11.4% and 11% belonging to the *Molossidae*, *Vespertilionidae* and *Phyllostomidae* families, respectively. Of the total of bats identified 88.53% had habits insectivorous, 6.82% frugivorous, 4.39% sucking nectar and 0.28% hematophagous. In the warmer seasons of the year (spring and summer) it was received 1808 bats being 1727 insectivorous, 48 frugivorous, 29 sucking nectar and two hematophagous. In the colder seasons (autumn and winter), it was received 1038 bats being divided into 791 insectivorous, 145 frugivorous, 95 sucking nectar and 6 hematophagous. In relation to the rabies diagnosis, 37 specimens (1.3%) were diagnosed as positive, including the families *Vespertilionidae* (17), *Phyllostomidae* (13) and *Molossidae* (7). According to feeding habits bats were classified into 30 insectivorous and seven frugivorous specimens. The positive rate in the winter, were four insectivorous and one frugivorous, and it seems smaller than other stations. The positive rate in the summer was higher in *Vespertilionidae* than in *Molossidae*. This result was different that was observed by Constantine in the USA. He observed the higher rate positive in *Molossidae*. The differences observed in this study suggested the importance of feeding habits and breeding season of bats, considering principally the supply of food and warm seasons. The knowledge of bats and seasonal identification studies can contribute to improve the epidemiological surveillance program used in rabies management in determining the existence of bats of different families and/or feeding habits in different seasons.

PT.044
STUDY AND DISTRIBUTION OF RABIES VIRUS IN NON NEURONAL ORGANS IN BATS SENT TO LABORATORY DIAGNOSIS IN PASTEUR INSTITUTE

Lima JYO¹, Achkar SM¹, Scheffer KC¹, Castilho JG¹, Rodrigues AC¹, Kotait I¹, Carrieri ML¹ – ¹Instituto Pasteur

Bats are considered important reservoirs of rabies virus, which is paramount in the study of the pathogenesis of this zoonosis disease, through the use of sensitive systems. The presence of viral antigen in these species shows that non-neuronal viral spread is efficient in different organs that participate effectively in the elimination of rabies virus, such as, salivary glands and bladder. This study aimed to investigate the presence of rabies virus in samples of bats submitted for laboratory diagnosis, as well as, to study the pathogenesis of the disease through the use of laboratory animals. 3,930 routine diagnostic specimens of bats were processed during the period between January 2011 and May 2012 by direct immunofluorescence (DIF) and viral isolation on murine neuroblastoma cells (VICC) techniques. 58 samples were diagnosed rabies positive from 37 bats in 2011 and 21 samples were diagnosis rabies positive in 2012, representing a positivity rate of 1.80%. We randomly selected 28 bats from rabies positive which were submitted to collect organs for preparation of inoculum in the proportion to the ratio of 1:10 for salivary glands and tongues, and 1:20 for bladders, which were inoculated in volume of 0.03 mL by the intracerebral route in post-weaning Swiss mice (21 days old and weighing 11g and 14g). Clinical observation was performed during 30 days and the presence

of the virus was verified by the DIF technique in diseased and dead animals. 60.7%, 50% and 42.8% of animals selected for the study were rabies positive by viral isolation in the salivary glands, tongue and bladder, respectively. The minimum incubation period was seven days and maximum incubation period varied between 17 and 21 days. The present study demonstrated the presence of rabies virus in non-neuronal organs (salivary gland, bladder and tongue) in 67.8% rabies positive animals in central nervous system (CNS). The detection of rabies virus in non-neuronal organs by DIF and virus isolation has been observed in several studies. For studies of pathogenesis of rabies in bats, these results demonstrate that the use of mice is still a good alternative. Due to lack to use CNS in routine practice in bats for reasons of poor preservation of the specimen, it may be necessary to use nonneuronal organs in order to obtain the positive rabies diagnosis.

PT.045
EFFECTS OF ONRAB IN SELECT NON-TARGET WILDLIFE SPECIES

Fry TL¹, VanDalen K¹, Duncan C², VerCauteren K¹ – ¹USDA-APHIS-WS-National Wildlife Research Center, ²Colorado State University

ONRAB[®] is a recombinant rabies vaccine used to as an oral vaccine in wildlife species such as: fox (*Vulpes vulpes*), raccoons (*Procyon lotor*), and striped skunks (*Mephitis mephitis*). The viral vector in the ONRAB[®] vaccine is human adenovirus type 5 (HAd5) with the gene for rabies glycoprotein incorporated into its genome. HAd5 is a relatively safe and well-studied virus, which is used in many vaccine formulations. Canadian researchers (e.g., Knowles et al. 2009) have conducted vaccine efficacy and safety studies using ONRAB[®] in 18 species of animals. Our research expands on the species previously evaluated. We studied the vaccine as it relates to its safety in wildlife species likely to contact the ONRAB[®] vaccine during oral rabies vaccine (ORV) campaigns in the United States. We investigated the effects of high doses of the ONRAB[®] vaccine in wood rats (*Neotoma spp.*), eastern cottontail rabbits (*Sylvilagus floridanus*), Virginia opossums (*Didelphis virginiana*), Eastern wild turkey (*Meleagris gallopavosilvestri*), and fox squirrel (*Sciurus niger*), whose range overlaps with ORV target species in the United States. After inoculation of the animals we performed realtime PCR on fecal swabs, oral swabs, and tissues to detect viral DNA. Our preliminary results mostly concur with the findings of Knowles et al. (2009). By 7 days postvaccination, turkeys, opossums, and cottontails had all stopped shedding viral DNA. One woodrat and five fox squirrels still had detectable levels of viral DNA in fecal swabs on 7 days post-inoculation. However, 45% of fox squirrels were co-infected with *Leptospira interrogans*, which may be a confounding factor to the prolonged detection of viral DNA in fecal swabs from these animals. There were no significant findings on gross histology of liver, kidney, small intestine, large intestine, and lung in any of the species studied. We are currently completing PCR analysis of the tissues listed above as well as nasal turbinates. Initial results suggest low likelihood of persistence of ONRAB[®] in the environment or in individual animals that contact the vaccine. Our preliminary conclusions suggest that non-target species will not be negatively impacted by the distribution of ONRAB[®] as part of ORV programs in the United States.

PT.046**ISOLATION AND DETECTION OF RABIES VIRUS IN THE FECAL CONTENTS OF NATURALLY INFECTED FRUIT BATS**

Scheffer KC¹, Fahl WO¹, Iamamoto K¹, Rodrigues AC¹, Carnieli Jr P¹, Carrier ML¹, Oliveira RN¹, Ito FH² – ¹Instituto Pasteur de São Paulo, ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

The spread of the rabies virus into various tissues, organs and secretions in infected animals occurs with the progression of clinical disease. Fecal samples may have lower viral concentration and the objective of this study was to isolate and detect rabies virus in the fecal contents of fruit bats through virus isolation in cell culture technique and by RT-PCR, hemi-nested RT-PCR (hnRT-PCR) and Real Time RT-PCR. Thirty specimens of the genus *Artibeus* bats, previously identified as positive for rabies by FAT and inoculation of murine neuroblastoma cell line (N2A) were selected and the intestine was removed from every animal and was scraped off, in order to collect the fecal contents. The fecal contents were weighed, homogenized and diluted 1:10 (w/v) using a diluent, consisting of 0.85% saline solution, supplemented with 2% Bovine Fetal Serum free of rabies virus-specific antibodies and 0.1% of gentamicin sulfate. The suspensions were kept at 4°C for 30 minutes and centrifuged at 800xg for 30 minutes at 4°C, filtered with the aid of 5-ml and 33mm length syringe provided with filter Millex[®] with porosity of 0.45µm. The suspensions were inoculated into murine neuroblastoma cells (N2A) for viral isolation. For molecular techniques, extraction of total RNA and the reverse transcription were carried out, followed by PCR and hnRT-PCR targeting to gene N. The Real Time RT-PCR technique was performed on the product generated from the reverse transcription. Of the 30 suspensions inoculated, only one (3.33%) was positive for virus isolation. None of the samples was positive by RT-PCR, however, 13 samples (43.33%) were positive for rabies by hnRT-PCR and Real Time RT-PCR techniques. The fact that only one sample was positive by virus isolation can be explained by a variety of interferences found in this substrate, such as the presence of bacteria and also different degraded products of food that can cause inhibition of the reactions. It is also believed that these interferences may influence the results of the RT-PCR, hnRT-PCR and the Real Time RT-PCR techniques, demonstrating that the fecal contents are of the most complex biological samples for amplification techniques used as diagnostic methods. Nevertheless, this study demonstrated that both the hnRT-PCR and Real Time RT-PCR techniques were sensitive for the detection of rabies virus. Thus, we conclude that these techniques can be used as complementary tools in laboratory diagnosis and fecal samples may also be used for diagnosis of rabies.

PT.047**A WORLDWIDE SURVEY OF THE REPORTING OF HUMAN RABIES**

Taylor LH¹, PRP² – ¹Global Alliance for Rabies Control, ²Partners for Rabies Prevention

Without accurate reporting of human rabies cases, it is impossible to assess the true burden of the disease on countries, to assess how much resources a government should allocate to rabies control, or to carry out cost-benefit analyses on rabies prevention efforts. The Global Alliance for Rabies Control (GARC) with the Partners for Rabies Prevention is conducting a global survey of human rabies reporting practices. We want to gain a global picture of where human rabies is a notifiable disease and to assess whether the systems in place for the reporting of cases are perceived to be adequate. Networks of rabies experts have been asked to complete a short survey which collected information

on whether human rabies was notifiable, which authorities were responsible for the collation and reporting of cases, whether the system was effective, and some details of what data is collected and how it is disseminated. The survey is available online in a user-friendly format in English, French or Spanish. Preliminary results from 104 respondents in 69 countries have been analyzed and show that human rabies is a notifiable disease in 61 (88%) of these countries. However, respondents indicated that the reporting system was ineffective for 23% of the countries where rabies was notifiable. A regional analysis suggests that the countries where rabies is not notifiable, or where the system is ineffective are almost all in Africa and Asia where the burden of human rabies is highest, and more investment in rabies control is badly needed.

PT.048**INTRADERMAL-INTRAMUSCULAR SWITCH EFFICACY IN RABIES POST EXPOSURE PROPHYLAXIS.**

Poujol P¹, Simons de Fanti A¹, Goesch J¹, Ribadeau Dumas F² – ¹Pasteur Institut – Rabies Center, ²Pasteur Institut – Rabies Center/ National Reference Center for Rabies

Introduction-objectives: Because of the high costs of rabies intramuscular (IM) post exposure prophylaxis (PEP) protocols, cheaper intradermal (ID) protocols using reduced doses were developed in some countries and validated by WHO. Due to lack of data on the efficacy of a protocol using ID and IM route successively, WHO recommends using only one route of administration per protocol. In France and many other high resource countries, no packaging adapted to ID route is available and only IM regimens are authorized by the marketing authorization, leading doctors not to follow WHO recommendations for patients having started an ID protocol abroad. As there is no study available on ID-IM switch efficacy, we sought to evaluate it with two objectives: to describe serological efficacy of our daily practice and to assess if there is a need to alert our national health authorities about the need of authorizing the ID route. **Materials and methods:** In our rabies center, PEP initiated abroad with ID route are systematically switched to IM and one serology (ELISA) is prescribed 7 to 14 days after the end of this mixed protocol to control its efficacy. We realized a non interventional descriptive prospective study including all 15 patients of our center who began ID PEP abroad between 07/01/2010 and 08/31/2011. **Results:** The rabies serology, carried out in median 13 days after the end of the PEP, was available for 12 of the 15 patients who received an ID-IM protocol (3 others were lost to follow-up). Mean age of the patients was 38.8 years (6.5 to 61.5 years) and the country of exposure were Sri Lanka, Thailand, Madagascar and India. The antibody level was higher than the one recommended (0.5 EU/ml) in all cases. No patient disclaimed any side effect. **Conclusion:** This study is limited by a small number of patients but to our knowledge it is the only one available on this topic. We found no evidence of a lack of efficacy due to the ID to IM route switch during rabies PEP. Consequently this study does not provide any argument favoring an alert of the health authorities concerning this practice in countries where only the IM route is authorized. These results need to be controlled by larger studies. The authors disclose no conflicts of interest for this work.

PT.049**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DO ATENDIMENTO ANTIRRÁBICO HUMANO EM AGRESSÕES POR CÃES E GATOS NA 10ª REGIÃO DE SAÚDE/LIMOEIRO DO NORTE, NO PERÍODO DE 2007 A 2011.**

Chaves CS¹, Lima FMG², Rodrigues VC³ – ¹Secretaria de Saúde do Estado do Ceará – ^{10a} Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, ²Secretaria de Saúde do Estado do Ceará – ^{10a} Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, ³Secretaria de Saúde do Estado do Ceará – ^{10a} Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte

A raiva é transmitida ao homem pela inoculação do vírus presente na saliva e secreções de um animal infectado, e tem letalidade de aproximadamente 100%. Sua prevenção é baseada no tratamento profilático quando houver suspeita de exposição ao vírus da raiva, sendo este baseado nas características da lesão provocada pelo animal agressor, tipo de animal e sua possibilidade de observação¹. O estudo tem como objetivo conhecer o perfil epidemiológico do atendimento antirrábico humano em agressões por cães e gatos na 10ª Região de Saúde de Limoeiro do Norte, no período de 2007 a 2011. Realizou-se a partir de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINANNET, 10ª CRES) dos onze municípios da Região de Saúde. Foram analisados o tipo, local, extensão e profundidade das lesões, a conduta de profilaxia da raiva adotada; e também o motivo de interrupção do tratamento. As agressões por cães representaram 62,7% dos acidentes, enquanto 31,2% foram por gatos. Predominou a mordedura como tipo de agressão com 86,9% das notificações, e as lesões de ferimento único com 51,8% dos casos. Dos locais atacados, mãos e pés tiveram 41,8% das agressões, seguidos por 34,2% das lesões em membros inferiores. Quanto à profundidade do ferimento, 50,6% foi lesão superficial. Um total de 4605 pessoas foram atendidas no período e o tratamento foi instituído para 83,7%. Após a conduta terapêutica, 59,5% dos pacientes concluiu o tratamento, 1% deles o interrompeu (0,4% por indicação da unidade de saúde) e 39,5% com informação ignorada. Considerando-se o local de agressão, 47,3% dos casos foram definidos como graves, realizando-se o tratamento associado de soro e vacina em 8% das pessoas. A indicação de vacina fez parte da conduta de quase 100% dos tratamentos instituídos. A conduta de observação e vacina foi aplicada em 52% das agressões. Um percentual de 78,8% foram considerados sem suspeita de raiva no momento da agressão e 11,8% clinicamente suspeitos. Nota-se que as agressões por cães lideram o número de acidentes. O tratamento profilático pós-exposição instituído é na maioria de vezes baseado na utilização da vacina, e que a conduta de apenas observação, que deve ser utilizada em acidentes leves não foi relevante. Todavia, se 78,8% dos animais foi considerado clinicamente sadio no momento da agressão e 50,6% dos acidentes foram superficiais, sugere-se que grande parte desses pacientes poderia ter sido dispensada do tratamento. Ressalta-se que a conduta de observação foi aplicada em apenas 10% das notificações. Torna-se necessária a correta aplicação da normatização de profilaxia antirrábica, como também a atuação multidisciplinar. Além disso, o preenchimento adequado da ficha de notificação é importante registro dos dados e avaliação dos mesmos, oportunizando a tomada de decisões.

PT.050**STABILITY EVALUATION OF FLUORESCENT ANTI-RABIES VIRUS CONJUGATE PRODUCED IN INSTITUTO PASTEUR OF SÃO PAULO**

Freitas AP¹, Peixoto ZMP¹, Silva ACR¹, Scheffer KC¹, Chaves LB¹, Caporale GMM¹ – ¹Instituto Pasteur

The fluorescent anti-rabies conjugate (FARC) produced in Instituto Pasteur de São Paulo (IP-SP) is obtained by fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugation with specific polyclonal antibodies purified and it recommended storage temperature of 4°C protected from light incidence. Given the fundamental importance of this reagent for rabies laboratorial diagnosis, the aim of this study was evaluate its stability in relation to physical factors that can affect the quality and maintenance of product characteristics. To do this, different aliquots of FARC batch IP-TOT1/11 submitted to temperatures of 37, 56, 65 and 80°C for 1 hour or exposed to ambient light for 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 minutes and 24 hours were used on direct immunofluorescence (DIF) test on slides with central nervous system imprints of mice infected with *Challenge Virus Standard* (CVS) and in monolayers of BHK-21 cells infected with *Pasteur Virus* (PV), with titers previously defined of 1:160 and 1:80, respectively. Also, with one aliquot retained on the recommended conditions, the same tests were performed and exposed for 1, 3, 5, 8 e 10 minutes to ultraviolet (UV) radiation on fluorescence microscopy. The crosses system was adopted to evaluating the fluorescence intensity observed in the reactions, which was attributed 4+ for high fluorescence intensity, 3+ to media intensity, 2+ low intensity and 1+ to total loss of fluorescence. For light exposition, the samples exposed of 10 to 90 minutes received 4+, the samples exposed to 120 and 150 minutes received 3+ and the samples exposed for 24 hours received 2+. The samples submitted to temperatures of 37°C and 56°C received 4+ and the samples submitted to 65 and 80°C showed only traces of residual FITC on the reactions, being impossible observed the characteristics rabies virus cytoplasmatic inclusions. And with the increasing of exposition time to UV it was observed the gradual loss of fluorescence intensity reaching to 1+ after 10 minutes. These results showed that FARC tested kept the same quality characteristic even exposed to room light until 90 minutes and 56°C for 1 hour, showing the same fluorescence intensity of reagent kept on recommended conditions, although it doesn't be exposed to UV for long periods during the reading of reactions on fluorescence microscopy, showing be a stable reagent and as it has a high value, it must be reevaluated when submitted to adverse conditions, avoiding waste. Financial Support: Instituto Pasteur

PT.051**EVALUATION OF THE INTERFERENCE OF ALKALOIDS OBTAINED FROM THE SKIN SECRETION OF *Ameerega picta* IN THE PENETRATION OF RABIES VIRUS IN BHK-21 CELLS**

Freitas AP^{1,2}, Silva ACR², Scheffer KC², Pimenta DC¹ – ¹Instituto Butantan, ²Instituto Pasteur

Rabies is an infectious disease caused by a virus belonging to the family *Lissavirus* that affects all mammals including humans. Rabies transmission occurs by virus-containing saliva, through biting or licking of an injured tissue. The virus replicates at the site of inoculation until it reaches the nerve endings. At the neuromuscular junctions, the virus binds specifically to the nicotinic acetylcholine receptor. On the other hand, alkaloids have yielded interesting results in terms of drug development. Since rabies virus infection is, at least, partially associated to the nicotinic acetylcholine receptor, the present

study focus on the evaluation of molecules obtained from the skin secretion of *Ameerega picta*, in the process of penetration and infection of rabies virus in *Baby Hamster Kidney* (BHK-21) cells. The secretion was collected through stimulation by manual compression of the amphibian glands, and then separated into 14 fractions by reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The fractions were characterized by mass spectrometry and tested for their cytotoxic effect on BHK-21 cells. Fraction 3 was the only one presenting cytotoxicity, by means of arising morphological changes when compared to the negative control (cells + MEM) and the positive control (cells + 20% DMSO). Subsequently, the fractions were screened for their ability to interfere in the process of virus cellular penetration. The rapid test for inhibition of fluorescent foci (RFFIT) showed that fractions 3, 6 and 7 were able to decrease the viral infection. Analyses by mass spectrometry showed that the molecules present in the active fractions ranged from 200 to 500 Da, which is in the alkaloid molecular mass range. Molecules are undergoing purification for proper virological assays and structural characterization. Financial Support: Instituto Pasteur, CAPES, FAPESP, CNPq.

PT.052

SENSORIAMENTO REMOTO EM MORCEGOS HEMATÓFAGOS *Desmodus rotundus* NO MUNICÍPIO DE POTIRETAMA, CEARÁ, BRASIL, 2008 – 2009

Moura FBP¹, Silva MVS¹ – ¹Secretaria da Saúde do Estado do Ceará – ^{1a} Coordenadoria Regional de Saúde de Fortaleza

Introdução: Estudos de sensoriamento remoto tornaram-se cada dia mais presente entre os trabalhos desenvolvidos na área animal. Carini concluiu que a raiva em bovinos era transmitida pelo morcego *Desmodus rotundus*¹ e estudos relacionados ao controle dessa doença vêm sendo direcionados paralelamente aos estudos de comportamento, controle e dinâmica de populações dessa espécie. Em 2008 em Potiretama-Ceará foi realizado um trabalho com sensoriamento remoto numa colônia de *D. rotundus* com, aproximadamente, trezentos indivíduos numa fuma chamada Fuma da Onça. Apesar da ampla distribuição desta espécie, pouco estudo se propôs a estudar seu comportamento de acordo com o sexo e fase lunar através do sensoriamento remoto.

Objetivos Gerais: Prevenir casos de Raiva humana originários do ciclo silvestre através do monitoramento e controle populacional de morcegos hematófagos. **Material e método:** Foi utilizado sistema de rádio-telemetria terrestre com codificação digital, frequência de operação 433.92 MHz (UHF); receptores manuais com antena direcional YAGI de três elementos; receptores autônomos Data-loggers com registros dos animais em vários intervalos de tempo diferentes e radio transmissores (Chips) pesando 3g. Para análise das permanências dos quirópteros fora, dentro e na entrada do abrigo foram convencionados parâmetros de tempo constituindo períodos Longos ≥ 50 minutos, Médios $30 \geq e < 50$ minutos e Curtos < 30 minutos. **Resultados:** Os morcegos hematófagos *D. rotundus* apresentaram, segundo sexo, comportamentos distintos nas diferentes fases lunares. **Conclusão:** Na lua Nova ambos, macho e fêmea apresentaram atividade ao longo da noite (antes, durante e após o aparecimento da lua), permaneceram na entrada do abrigo quando não havia risco de predação. Na lua Cheia houve pouca ou nenhuma atividade alimentar do macho com pouca ocorrência de saída de longa duração antes da lua aparecer e sem permanência na entrada do abrigo, tendo em vista a alta intensidade do luar que favorecia o risco de predação. Na lua Minguante o macho apresentou atividade alimentar significativa antes da lua aparecer e moderada ou nenhuma após o seu aparecimento, permanecendo na entrada do abrigo quando não havia risco de predação. O conhecimento da dinâmica

de transmissão de Lyssavirus entre morcegos hematófagos e o homem, pode permitir mudanças na dinâmica da enfermidade e a readequação, em tempo hábil, das estratégias de controle. **Agradecimentos:** Aos moradores do município de Potiretama, pela disponibilidade em ceder seu tempo e conhecimento para a realização desse trabalho. Aos técnicos do Núcleo de Controle de Vetores (NUVET) – Secretaria da Saúde do Estado do Ceará (SESA), principalmente, Maria Mariza de Lima e Silva e Estevão Curado Domingues, que acompanharam o primeiro autor em todas as atividades, visitas e coletas. Aos técnicos veterinários e demais servidores da 10ª Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte. Aos servidores da Secretaria Municipal de Saúde de Potiretama. **Referências Bibliográficas** 1. Almeida, M.F.; Aguiar, E.C.E.; Martorelli, L.F.A.; Silva, M.M.S.. Diagnóstico laboratorial de raiva em quirópteros realizado em área metropolitana na região sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, p. 341-344. 1994.

PT.053

RABIES IN CANADA – 2011

Knowles MK¹, Kush J², Iqbal Z², Hamill P¹, Fehlner-Gardiner C¹ – ¹Canadian Food Inspection Agency – Centre of Expertise for Rabies, ²Canadian Food Inspection Agency – Lethbridge Laboratory

In 2011, 4397 suspect rabid animals were submitted for testing to the Canadian Food Inspection Agency diagnostic laboratories in Ottawa, Ontario and Lethbridge, Alberta. Of these, 115 (2.6%) tested positive in the fluorescent antibody test (FAT). Additionally, enhanced wildlife surveillance samples from Ontario (ON, n=185) and Alberta (AB, n=88) were tested and found to be negative. The majority of rabies cases were detected in the province of Saskatchewan (n=34), followed by ON (n=26), Manitoba (n=21), Quebec (n=17), British Columbia (n=7), Northwest Territories (n=6) and Nunavut (n=4). No cases were found in AB, Yukon Territories, or the Atlantic provinces, although with the exception of AB, samples submissions were very low (1 to 40 samples) from these regions. The striped skunk (*Mephitis mephitis*) was the species most frequently found positive (n=42), followed by big brown bat (*Eptesicus fuscus*, n=35), Arctic fox (*Vulpes lagopus*, n=11) and red fox (*V. vulpes*, n=5). Spillover of wildlife rabies variants into domestic animals was observed in 1 bovine and 1 dog (Arctic fox variant), and in 4 cats, 2 horses and 1 dog (Western skunk variant). The remaining positive cases were found in various bat species. Positive cases involving human exposures originated from 33 different counties, whereas those with only domestic animal exposures or no exposures noted came from 58 and 14 counties, respectively. Of the 105 counties represented only 6 were common to two or more exposure categories. While 1% of samples with human exposures tested positive, 10.6% of those with domestic animal exposure, and 5.2% of those with no exposure indicated tested positive for rabies. In addition to the animal samples, seven human suspect cases were tested by RT-PCR and/or FAT on saliva and nuchal skin biopsy samples; all were negative for rabies.

PT.054**SHORT-INTERFERING RNA EVALUATION IN EXPERIMENTAL MICE RABIES VIRUS INFECTION CAUSED BY VARIANT 2 AND VARIANT 3**

Appolinario CM¹, Allendorf SD¹, Peres MG¹, Antunes JMAP¹, Vicente AF¹, Pantoja JCF¹, Megid J¹ – ¹Unesp- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

Objective: Rabies is an ancient disease and until now no effective treatment is available. Treatment using short-interfering RNA (siRNA) to inhibit rabies virus (RABV) replication showed promising results in vitro. Our purpose was to evaluate the efficacy of siRNA in treating mice experimentally infected with different street RABV strains. **Materials and Methods:** 3 groups of 20 C57/BL6 mice, SPF, 4-6 weeks-old were inoculated in gastrocnemius muscle with 3 different RABV strains. A variant 2 isolated from a dog [dv2 (LD₅₀ 10-3.39/0.03 mL)], a variant 2 isolated from a human [hv2 (LD₅₀ 10-6.66/0.03 mL)] and a variant 3 isolated from a human [hv3 (LD₅₀ 10- 6.66/0.03 mL)]. For each group, 10 mice remained untreated and 10 mice were treated with a mix of 3 different siRNA sequences (3.3 µM each) associated with lipofectamine (Brandão et al. 2007) based on rabies virus N gene as a target. Animals received a single dose of siRNA mixture, via intraperitoneal route, 24h post RABV inoculation (p.i) and were observed during 30 days. Cox Proportional Hazards models were used to estimate lethality rates and Hazard Ratios (HR) between groups.

Results: For dv2, lethality was 37.5% in the inoculated group and 50% in the siRNA group (P= 0.71; HR= 0.75); For hv2, lethality was 100% in the inoculated group and 70% in the treated group (P= 0.27; HR=0.57); For hv3, lethality was 60% in the inoculated group and 80% in the treated group (P= 0.21; HR= 1.97).

Conclusion: The efficacy of siRNA seems to be associated to the RABV strain once the results of survival was variable in the groups submitted to siRNA and infected with different RABV strain. The siRNAs used were designed based on Pasteur virus N gene sequence, a fixed strain while in our study street RABV strains were used. Even considered as a conserved gene, studies showed significant genetic variability. A nearly perfect complementary sequence between siRNA molecule and the viral RNA target is necessary for mRNA cleavage. Our RABV N gene sequences showed 85.7% – 95.2% of homology between v3 and siRNAs sequences and 95.2% – 100% to v2, confirming this natural variability and the better results obtained with the variant 2. In this study, a nonbiological delivery system was used and an important point is the difficulty of siRNAs delivery within CNS being this a major problem in practical therapeutic.

PT.055**CANINE AND FELINE RABIES IN THE STATE OF SÃO PAULO – DATA FROM THE PASTEUR INSTITUTE OF SÃO PAULO, 1999-2012**

Carrieri ML¹, Achkar SM¹, Castilho JG¹, Oliveira RN¹, Carnieli Jr P¹, Macedo CI¹, Omoto TM², Takaoka NY², Kotait I² – ¹Instituto Pasteur – Seção de Diagnóstico, ²Instituto Pasteur

The São Paulo State Rabies Control Program, coordinated by the Pasteur Institute of São Paulo, has been involved in endeavors to improve the epidemiological surveillance of rabies in dogs, cats and bats, particularly in urban areas. Since 1998, when the last case of canine rabies due to antigenic variant 2 occurred in the state, the Institute has received 66,352 canine central nervous system samples, 17,796 samples from cats and 38,133 from bat specimens. Using conventional techniques for rabies diagnosis, 11 dogs, 8 cats and 554 bats were found to be positive for this disease. When molecular techniques, such as antigenic typing and genetic

sequencing, were used, antigenic variant 3, which is associated with *Desmodus rotundus*, was detected in 11 dogs and 7 cats; this variant has also been identified in bat species from the genus *Artibeus* spp., which has synanthropic habits. Only one cat was positive for variant 4, which is associated with *Tadarida brasiliensis*. It should be noted that the signs and symptoms of cats and dogs infected by rabies variants associated with bats were quite different from those in dogs infected with variants associated with dogs (variants 1 and 2). In general, symptoms were atypical, the most common clinical picture being that of paralysis and hemorrhagic gastroenteritis, and cases were nearly always isolated. Positive samples from cats and dogs frequently came from animals that had been run over and died. These findings show the importance of maintaining active epidemiological surveillance of cats and dogs and of sending samples for rabies diagnosis, particularly in regions where rabies is known to occur in urban areas.

PT.056**EVALUATION OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE CONFERRED BY PURIFIED CHICK EMBRYO CELL VACCINE (PCECV) AND PURIFIED VERO CELL VACCINE (PVCV) USED IN COMPLETE AND MIXED PREEXPOSURE SCHEMES AT PASTEUR INSTITUTE OF SÃO PAULO**

Cunha Neto RS¹, Cunha RS², Chaves LB¹, Scheffer KC¹, Caporale GMM¹, Silva ACR¹ – ¹Instituto Pasteur – Laboratório de Sorologia, ²Instituto Pasteur – Área Clínica

The most widely used vaccines in the Western world for human rabies prophylaxis are Purified Chick Embryo Cell Vaccine (PCECV) and Purified Vero Cell Vaccine (PVCV), which is used at Pasteur Institute of São Paulo since 2000. Whereas in Brazil there are no reports of the use of PCECV in replacement or complementation to PVCV, the aim of this study was to evaluate humoral immune response of people vaccinated against rabies in complete and mixed pre-exposure schemes using PCECV and PVCV with different routes of application, intramuscular (IM) and intradermal (ID). According to the vaccination scheme received, 115 serum samples from different individuals were distributed in seven groups: three containing serum samples from patients who received complete schemes with one vaccine and one route of application – 3 PVCV (IM), 3 PVCV (ID) e 3 PCECV (IM) -, used as reference; and four containing serum samples from patients who received both vaccines and two routes of application, featuring a mixed scheme – 2 PVCV (ID) + 1 PCECV (IM), 1 PVCV (ID) + 2 PCECV (IM), 2 PCECV (IM) + 1 PVCV (ID) e 1 PCECV (IM) + 2 PVCV (ID). The humoral immune response was analyzed based on the levels of rabies virus neutralizing antibodies (RVNA) obtained by rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT); through calculation of its maximum and minimum values, median, standard deviation, 1st and 3rd quartiles, interquartile range and Kruskal-Wallis test. Differences statistically significant (p-value < 0.05) were observed when the group 2 PVCV (ID) + 1 PCECV (IM) was compared with the groups 3 PVCV (IM) and 1 PCECV (IM) + 2 PVCV (ID). The group containing serum samples from patients who received 2 PVCV (ID) + 1 PCECV (IM) is the one responsible for statistical differences observed, because it is the group in which higher RVNA titers were detected, ie, the group with the best humoral immune response. Despite the differences observed, in all serum samples, RVNA titers obtained can be considered adequate (≥0.5 UI/mL), regardless of the vaccine and routes of application used. The use of PCECV for rabies vaccination, in complete or mixed pre-exposure scheme, showed satisfactory results in the induction of humoral immune response and its use may be adopted when it is necessary to complement or replace PVCV. Financial Support: Instituto Pasteur, São Paulo/SP, Brasil

PT.057**ANALYSIS OF DOG AND CAT POPULATION SUBMITTED TO VACCINATION CAMPAIGNS AGAINST RABIES IN A SMALL CITY FROM BRAZIL**

Babboni SD^{1,2}, Fornazari F¹, GONZALEZ GK², VICTORIA C¹, Modolo JR¹ – ¹UNESP -Botucatu – Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, ²Prefeitura Municipal de Botucatu – Vigilância Ambiental em Saúde

In many developing countries domestic dogs and cats are the most important transmitters of rabies to men. The annual vaccination constitutes an important preventive activity, and the knowledge of animal population profile can assist future prophylactic programs, not just for rabies but also for other infectious diseases and social problems involving dogs and cats. In most Brazilian cities there is no census that can provide these data. One alternative, although limited, is to collect information from the vaccination campaign itself, realized by the public service. The present study aimed to analyze: the number of vaccinated dogs and cats in a small Brazilian city; their sex and reproductive status; and evaluate if there was a decrease in vaccinated animals after two years without campaign. The study was realized in the city of Botucatu (22°53'09"S 48°26'42"W), São Paulo State, Brazil, which comprises an area of 1,482.87 km², has a human population of approximately 127,370 hab. (last census, 2010), and its dog and cat population are estimated to be 29,197 and 7,542 animals, respectively (Pasteur Institute estimative, 2010). Data from the campaigns of 2009 and 2012 were obtained from the records of the Environmental Vigilance Department of the city. The total of vaccinated animals in 2009 was 26,664 (23,755 dogs and 2,909 cats) and in 2012 was 23,584 (20,195 dogs and 3,389 cats). The profile of the vaccinated dog population was as follows: in 2009 – 12,284 females and 11,471 males; 3,966 castrated and 19,789 intact. In 2012 – 10,659 females and 9,563 males; 5,281 castrated and 14,914 intact. The profile of vaccinated cat population was as follows: in 2009 – 1,699 females and 1,192 males; 1,307 castrated and 1,602 intact. In 2012 – 1,907 females and 1,482 males; 1,537 castrated and 1,852 intact. The number of females was higher than males for both species and years. The proportion of intact animals was also higher than castrated ones, especially for dogs. These facts shown that the population of dogs and cats submitted to vaccination against rabies has a high proportion of individuals able to breed. This pattern probably also occur in the population of unvaccinated animals. Towards these data, local authorities should be aware of the problematic involving uncontrolled and undesirable reproduction of these species, which involves not just rabies control, but also other aspects of public health. During the years 2010 and 2011 there was no vaccination campaign against rabies in Botucatu. Nevertheless, only a small decrease in the number of vaccinated animals was observed in 2012. This difference is probably not significant, and can be observed among previous years with successive campaigns. Also, during 2012 there was no reinforcement in divulging the campaign against rabies. Thus, despite the two-year interruption of the vaccination campaign, the human population appears to continue to consider it as an important activity.

PT.058**RABIES SEASONALITY IN BATS (Chiroptera, Mammalia) FROM NORTHWEST OF SAO PAULO STATE, BRAZIL**

Pedro WA¹, Biagi MB², Carvalho C³, Perri SHV³, Queiroz LH³ – ¹UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, ²UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Graduando do Curso de Medicina Veterinária – Bolsista PIBIC/CNPq, ³UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal

Rabies is an important zoonosis which has the bats as one of the main reservoirs of the viral agent. In the XXI century still causes huge financial losses to the livestock industry and public health in Latin America, although it is a disease that has prevention, by preventive vaccination in cattle and human populations in risk areas, and post exposition treatment with serum in human beings. Considering the importance of the disease, the objective of this study was to test statistically the correlation between its occurrence in bats and seasonality (rain precipitation) in the northwest of São Paulo, Brazil. To test this hypothesis we used the records of results diagnostic for samples of bats that were sent for examination to the Rabies Laboratory at UNESP (Araçatuba Campus), by health or agriculture teams services of the municipalities in the northwestern region of São Paulo, Brazil. Some samples came from bats found inside the houses or in the streets by the general population or captured by the staff of the Laboratory of Chiroptera, UNESP (Araçatuba Campus), between the years 1999 and 2010, in the same region. The rainfall data were provided by the station of INMET (Institute of Meteorology) Votuporanga in the same period. For statistical analysis the data were grouped in periods of rain (October-March) and dry (April to September), year to year, and we used the Spearman correlation coefficient to test the correlation between rainfall and the occurrence of rabies in bats. The analysis resulted in a negative and significant correlation using the average rainfall during the dry and rainy seasons and the rabies positivity ($p = 0.0185$, $R = -0.477$, $N = 24$). Therefore, the positivity of rabies increases during the dry season. The weak but significant negative correlation between rainfall and the occurrence of rabies suggests that this is one of the factors that affect the temporal distribution of this zoonosis in bats in the northwestern region of São Paulo, Brazil. It is argued here, by hypothesis, that during the dry seas on the dislocation of bat populations from their shelters occurs due to the water scarcity and resources, and also due to the formation of new colonies by young bats that leave their original shelters. These displacements lead to dispersion of the virus to new areas, as well as an increase in the intraspecific and interspecific interactions of bat populations, that will compete for spaces in shelters, and consequently resulting an increased occurrence of rabies in different species. In addition to rainfall, other factors and processes probably affect or determine the distribution and occurrence of rabies, including the availability of shelters and resources, and the methods for control of hematophagous species. Acknowledgments: To the Institute of Meteorology (INMET) for rainfall data. To CNPq for providing scholarships to Pedro WA and Biagi MB.

PT.059**BATS AND RABIES IN THE NORTHWESTERN REGION OF SÃO PAULO STATE, BRAZIL.**

Casagrande DKA¹, Favaro ABBBC², Carvalho C³, Picolo MR⁴, Lopes AP¹, Favoretto SR⁵, Campos ACA⁶, Hernandez JCB⁷, Lot MS⁷, Albas A⁴, Pedro WA³, Queiroz LH³ – ¹UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Mestranda do Programa de Ciência Animal, ²UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Graduanda de Medicina Veterinária, ³UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, ⁴APTA – Agência Paulista de Tecnologia Agropecuária de Presidente Prudente – Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Sorocabana, ⁵Instituto Pasteur de São Paulo e Universidade de São Paulo – Núcleo de Pesquisas em Raiva -ICB, ⁶USP – Universidade de São Paulo – Núcleo de Pesquisas em Raiva -ICB, ⁷UNIP – Araçatuba – Graduanda do Curso de Farmácia e Bioquímica

During the two last decades three distinct cycles of rabies were identified in the northwestern region of São Paulo State: the urban cycle characterized predominantly by canine rabies from 1993 to 1997 and the aerial and rural cycles starting in 1998, with the predominance of cases in bats in urban areas and in herbivores. Twenty six bat species were preliminarily reported in this geographical region, including *D. rotundus* and *Diaemus youngi* and from 1998 to 2007, a total of 4,035 bat samples were tested for rabies resulting 50 (1.2%) positive cases in nine non-hematophagous species: three Molossidae, five Vespertilionidae and one Phyllostomidae. The aim of the present research was to describe the occurrence of rabies in non-hematophagous bats and the presence of antibodies against rabies virus in vampire bats in the northwest of São Paulo State, during the period from January 2008 to July 2012. Rabies virus was detected in 22 (1.97%) out of 1117 non-hematophagous bats and none of the 190 vampire bats examined. 82% of the bat positive samples was submitted to antigenic and genetic characterization and the variant of *D. rotundus* was identified in 28% of them. Serum from 125 vampire bats captured in four different shelters were tested for rabies virus neutralizing antibodies and 28% (35/125) resulted negative; 65% (81/125) resulted positive with titer from 0.10 to 0.5UI/ml and 7% (9/125) higher than 0.5UI/ml. Most of vampire bats presenting antibody were female (61%) from a natural shelter located in a tree role. Although no vampire bat was found positive for rabies, four positive cases of rabies transmitted by that specie were detected in the studied region: three bovine cattle and one cat. The presence of high percentage of vampire bats with virus neutralizing antibody indicates a recent exposure to rabies virus, which confirms that, although this geographical area is considered as low or negligible risk for rabies in herbivorous, surveillance measures should be maintained. Financial Support: FAPESP (Process 2008/00976-0) and CNPq (Process 578281/2008- 2) CNPq Technical Support Fellows: Carvalho C, Picolo MR, Hernandez JC, Lot MS

PT.060**RAIVA EM MORCEGOS (MAMMALIA: CHIROPTERA) NO ESTADO DE PERNAMBUCO: PROBLEMAS E PERSPECTIVAS FUTURAS**

Silva LAM da¹, Machado JLM², Araujo ACR³, Oliveira J do CT de³, Silva-Filho TPda³, Silva EMVG da³, Silva RR da³ – ¹CAV/UFPE – Núcleo de Biologia, ²LANAGRO/PE – SECRETARIA ESTADUAL DE SAUDE, ³CAV/UFPE – GEMNE

O Estado de Pernambuco localiza-se na região Nordeste do Brasil possuindo 186 municípios distribuídos em cinco mesorregiões (Agreste, Metropolitana, São Francisco, Sertão e Zona da Mata), cada uma apresentando distintas variações socioeconômicas, sanitária, climáticas e fitogeográficas que podem influenciar na dinâmica da raiva local. A raiva pode ser subdividida em quatro ciclos o urbano, o silvestre, o rural e o aéreo, este ultimo tem como principal agente participante os morcegos não hematófagos. O presente trabalho levantou o recebimento de amostras de morcegos pelo LANAGRO/PE para análise rábica entre 1991 e 2011 identificando localidade de encaminamento, espécies positivos e quando possível a espécie encaminhada. Nesse intervalo foram registradas 31.322 amostras para análise, destas 2,64% eram morcegos (n = 827) com uma maior representação das regiões metropolitanas (n = 443) e sertão (n = 291). Foi possível identificar 322 espécimes que pertenciam a 25 espécies e cinco famílias. *Molossus molossus* foi a espécie mais enviada (n = 151) seguida por *Glossophaga soricina* (n = 32). Houve um crescimento acentuado no envio de morcegos ao longo dos anos, partindo de uma única amostra em 1991 até 240 em 2011, os maiores valores foram para os últimos quatro anos. Entretanto, esse envio não é bem distribuído uma vez que apenas 52 municípios encaminharam amostras, com apenas nove enviando mais de dez amostras, permanecendo muitos municípios com a vigilância descoberta nesse grupo. Das 827 amostras recebidas 29 não se encontravam em condições adequadas para análise, estando mal conservadas, em elevado estágio de putrefação ou extremamente ressecadas. Cinquenta amostras foram positivas com ocorrências da região metropolitana ao sertão, 29 delas não foram identificadas, as demais pertenciam as seis espécies (*Molossus molossus*, *Desmodus rotundus*, *Artibeus planirostris*, *Myotis* sp, *Glossophaga soricina* e *Eptesicus furinalis*), muitos dos registros ocorreram no ambiente urbano. Os principais problemas detectados devem-se ao baixo número de amostras de morcegos recebido e ao elevado número de municípios sem encaminhamento que faz com que a situação do conhecimento da raiva nesse grupo no estado de Pernambuco ainda seja incipiente. Havendo assim a necessidade de ter como resolução futura, para minimizar esse efeito, se intensificar as ações de monitoramento da raiva em morcegos bem como formar protocolos para o registro, encaminhamento e identificação das espécies enviadas para análise, implantando equipes treinadas na identificação de morcegos e na resolução de problemas associados a esse grupo nos órgãos responsáveis pelo monitoramento da raiva facilitando assim o desenvolvimento do trabalho. Palavras – Chaves: quirópteros, ciclo aéreo, sinantrópicos, vigilância epidemiológica

PT.061**EPIDEMIOLOGIC, SEROLOGIC AND MOLECULAR STUDIES OF RABIES VIRUS ISOLATED IN BAT COLONIES OF *Histiotus velatus*, BRAZIL**

Martorelli LFA¹, Kataoka APAG¹, Campos ACA², Sodre MM¹, Araujo DB², Rosa AR¹, Trezza Netto J¹, Oliveira RN³, Almeida MF¹, Sacramento DRV⁴, Durigon EL², Favoretto SR^{2,3} – ¹Centro de Controle de Zoonoses-COVISA-PMSP, ²Universidade de Sao Paulo, ³Instituto Pasteur de Sao Paulo, ⁴Genomic Engenharia Molecular

Rabies was detected in two bats colonies of insectivorous *Histiotus velatus* that used as shelter ceilings of buildings in the same park in the North region of São Paulo City, Brazil in 2001 and 2009. This park although located in an urban area, has a large area of rainforest. Rabies diagnosis was made by FAT (Fluorescent Antibody Test) and MIT (Mouse Inoculation Test) techniques. The number of bats submitted to rabies diagnosis was forty-three in the first colony and forty in the second. Before it, bats received anesthetic and blood

samples were collected by cardiac puncture in sixty animals (thirty-eight of the first colony and twenty-two of the second colony) and the presence of rabies virus neutralizing antibodies was determined by SFIMT (Simplified Fluorescent Inhibition Microtest). The antigenic characterization of the isolates was made using a panel of monoclonal antibodies, which was produced and provided by Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta, U.S.A), as established by Pan- American Health Organization for characterization of rabies isolates in Americas. Five bats were positive to rabies by FAT and MIT in each colony, 12% in the first colony and 12.5% in the second. However, two bats dead of the second colony were unsuitable for rabies diagnosis by traditional techniques and their brains were submitted to RTPCR with positive results, totalizing seven positives bats indicating 23.3% of rabies virus positivity. All blood samples analyzed presented neutralizing antibodies titers and sixteen animals (40%) from the first colony and two (4.6%) of the second presented titers ≥ 0.5 UI/mL. There was a positive correlation between the incubation period in mice and the antibodies titers observed in the bats. The samples with the higher incubation period for MIT (29 days) were from bats that showed the highest neutralizing antibody titer. Some bats negative by MIT and FAT and apparently healthy, presented high antibodies titers. The antigenic characterization showed only one antigenic profile (positive just to MAb C12) observed in previous studies with samples isolated in the same species of bats in Brazil. Genetic characterization was performed by sequencing of a fragment of N protein region and the rabies genetic lineage identified in these study were segregated with isolates obtained from other *Histioteles velatus* samples isolated in other regions of Brazil. These results show the importance of these methodologies for the epidemiological surveillance of rabies virus in bats and the necessity of the monitoring of bat colonies in parks and environmental reserves frequented by humans and where living other wildlife species as preventive actions of rabies control.

PT.062

INVESTIGAÇÃO DE CASO DE RAIVA EM FELINO, MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, 2011

Mendes MCNC¹, Bernardi F¹, Paranhos NT¹, Alves GM², Oliveira JL³ – ¹Centro de Controle de Zoonoses da Coordenação de Vigilância em Saúde – Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, ²Supervisão de Vigilância em Saúde de Lapa/Pinheiros – Secretaria de Saúde do Município de São Paulo, ³Supervisão de Vigilância em Saúde de Jabaquara/Vila Mariana – Secretaria de Saúde do Município de São Paulo

Em 1969, no Município de São Paulo ocorreram 989 casos de raiva animal e cinco casos de raiva humana. Entre 1969 e 1973 (fundação do Centro do Controle de Zoonoses- CCZ/SP), o número de casos de raiva humana aumentou 2,2 vezes, o número de animais vacinados cresceu cinco vezes e observou-se um decréscimo dos casos de raiva animal, chegando a 56% do total ocorrido em 1969. A partir de 1981 não ocorreram mais casos humanos e entre 1983 e 2010 não foram registrados casos autóctones em cães e gatos. O perfil epidemiológico da raiva vem mudando em todo o Brasil, com restrição da área de circulação da cepa canina do vírus. Nas regiões em que a raiva foi controlada nos animais domésticos, os casos de raiva em humanos diminuíram e os animais silvestres passaram a representar um novo desafio. Em São Paulo a variante canina não tem sido mais detectada. Atualmente as variantes circulantes são relacionadas a quirópteros, ocorrendo anualmente, em média, dois a quatro casos em morcegos não hematófagos. Em 01/12/2011 o CCZ/SP foi comunicado de diagnóstico positivo para raiva de um felino, com histórico de contato com quiróptero e morte sem sintomatologia. O animal foi a óbito no

dia 3/10/2011 e encaminhado no dia 04/10/2011 para a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP com suspeita de envenenamento. A liberação do resultado positivo ocorreu em 01/12/2011. O felino, uma fêmea, castrada, dez anos, tinha livre acesso à rua e histórico de vacinação anterior a 2010. No imóvel situado em área estritamente residencial no Distrito de Moema, vivem cinco cães e 23 felinos. A região é bastante arborizada, com árvores que podem oferecer abrigo e alimento para diferentes espécies de morcegos, nas proximidades de um parque arborizado, Parque do Ibirapuera (à 750m de distância). Frente à confirmação da variante *Desmodus rotundus/Artibeus lituratus* desenvolveram-se ações de bloqueio em área de 500m de raio, a partir do foco. Foram realizadas visitas domiciliares, levantamento de abrigos, avaliação e orientação para encaminhamento médico de moradores e frequentadores da casa que tiveram contato com o animal doente, vacinação contra raiva e identificação de todos os animais da moradia, com observação por 180 dias a partir do óbito do animal positivo. Todos os imóveis da área de abrangência foram visitados, totalizando 1.277 imóveis trabalhados, 769 fechados e 140 recusas. Houve distribuição de material educativo, e foram vacinados contra raiva 102 cães e 16 gatos, com histórico de mais de seis meses de vacinação, no raio de cobertura de foco. Os animais contactantes foram acompanhados pelo CCZ, no período de observação, mantendo-se saudáveis. Recomenda-se o implemento de ações de vigilância: – laboratorial; – das agressões; – de rumores e casos suspeitos de animais com morte súbita ou histórico de contato com quirópteros ou outros animais silvestres e a revisão de estratégias do controle da raiva devido à mudança da situação epidemiológica da doença no município.

PT.063

ANTIGENIC AND GENETIC STABILITY OF RABIES VIRUS AFTER CONSECUTIVE PASSAGES IN MICE AND IN CELLS

Batista HBCR¹, Oliveira RN², Carnieli Jr P², Rodrigues AC², Santos SO², Fahl WO², de Paula FC², Carrieri ML², Kotait I², Castilho JG² – ¹Instituto Pasteur – Virologia, ²Instituto Pasteur

Despite the recognized stability of the rabies virus (RABV), antigenic and genetic differences among strains isolated from different species have been found. Different factors may be involved in generating heterogeneity in RABV, including duration of infection, virus load and host immune response. This work was carried out in order to examine the antigenic and genetic stability of RABVs isolated from different natural reservoirs and to help the understanding of viral pathogeny after consecutive passages in different systems. In this study were used three RABV strains, one isolated from canine, one isolated from haematophagous bat and the standard rabies virus strain (Challenge Virus Standard – CVS). These strains were submitted to five consecutive passages in mice and in cells. The consecutive passages in mice were made by intracerebral route, for that, groups of six mice were submitted to five inoculations with each one of the three RABV strains. The inoculated mice were observed daily and the dates of death were recorded. The consecutive passages in cells were made in “Neuroblast albino mouse” (N2a) cell lineage, for that, the strains were inoculated in suspension cells and incubated for 72 hours, subsequently, cells were frozen and thawed three times. Both mice and cell passages were submitted to antigenic and genetic characterization. The antigenic characterization was determined by indirect immunofluorescence (IIF) with a panel of eight monoclonal antibodies (Mabs) raised to RABV antigens. For the genetic characterization the total RNA was extracted with Trizol and submitted to reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) with primers targeting the N and the G genes, the amplicons obtained were subjected to nucleotide sequence analysis. The RABV sequences were analyzed using Bioedit package.

None significant modification was detected in the RABV pathogeny after five consecutive passages, for all RABVs analyzed. The N gene, shown the same characteristics after five consecutive passages in both systems analyzed (mice and cells) for the tree RABV strains. The RABV isolated from canine and the CVS, shown the same nucleotide sequence for the G gene after five passages in mice and in cells. The RABV isolated from haematophagous bat shown one amino acid change in the G gene after five passages, as in cells as in mice. Our results confirm the high stability of RABV and indicate minor genetic stability of RABV isolated from haematophagous bat than RABV isolated from canine, more experiments could be made to confirm these results. Financial support: Instituto Pasteur

PT.064

OCORRÊNCIA DE RAIVA EM HUMANO TRANSMITIDA POR ANIMAL SILVESTRE, EM ABRIL 2012, NO MUNICÍPIO DE TAPURAH-MT.

Reis VGL¹, Rocha SM², Almeida NN¹, Barros MC¹, Reis RC³ – ¹SES-MT – Vigilância em Saúde Ambiental, ²Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério – GT Raiva, ³Secretaria Municipal de Saúde de Cuiabá – CCZ

A raiva é uma doença infecciosa aguda, causada por um vírus, que compromete o sistema nervoso central (SNC), levando a um quadro de encefalomielite aguda, cuja letalidade é de aproximadamente 100% (Brasil, 2005; Brasil, 2009 e Kotait *et al*, 2009). Os animais domésticos, silvestres terrestres e morcegos são os maiores transmissores dessa doença aos seres humanos principalmente pelo contato da saliva contaminada por meio de mordedura, lambedura ou arranhadura (KOTAIT *et al*, 2009 e WADA *et al*, 2011). O vírus da raiva apresenta uma alta capacidade de adaptação a diferentes espécies de mamíferos, sendo esta doença com ampla distribuição mundial, ocasionando grande impacto socioeconômico e gerando um grave problema de saúde pública (KOTAIT *et al*, 2009; e WADA *et al*, 2011). Diante da problemática da ocorrência desta doença em escala mundial este estudo teve como objetivo avaliar o número de atendimentos por agressões causadas por animais silvestres, sobretudo por morcegos, no estado do Mato Grosso no período de janeiro de 2007 a julho de 2012, através dos dados registrados no SINAN/DATASUS/MS/SES-MT. De acordo com os registros do SINAN, para o período analisado foram notificadas 688 agressões a humanos por animais silvestres. Destes casos de agressões notificadas, 3,0% (21/688) a espécie agressora foi a raposa, 23,5% (162/688) foram por primatas não-humanos e 73,4% (505/688) foram por morcegos. As agressões por morcego correspondem em média 84,1 (505/6) agressões por ano, sendo 64,7% (327/505) destes atendimentos registradas na zona urbana e 35,2% (178/505) na zona rural. Este estudo corrobora com os realizados por Reis *et al*, 2010; e Wada *et al*, 2011, em que as agressões por morcego segue um padrão onde os maiores registros foram na zona urbana, sugerindo uma ascendente procura ao atendimento do serviço público de saúde. Este fato pode ser consequência da acessibilidade ao serviço de saúde na área urbana como também, a conscientização da população urbana em relação ao contato com estes animais. No período avaliado observou-se que os maiores contatos foram principalmente por morcegos não hematófagos, insetívoros e frugívoros, comuns em ambientes urbanos, como edificações e em árvores frutíferas, utilizadas em paisagismo cultural regionalizado, como em pomares e praças, facilitando a interação entre estas espécies, e com os caninos, felinos e humanos, podendo ocasionar graves consequências, fatos estes observados também nos estudos de Sodr e *et al*, 2010 e Ribeiro *et al*, 2010. Analisando os casos de raiva em morcego, no período estudado foram registrados em 2008, 02 casos em morcego não hematófagos. Embora não tenha observado registro

de positividade em morcegos hematófagos, no estado de Mato Grosso tem ocorrido casos de raiva em herbívoros, transmitidos por *Desmodus rotundus*, sugerindo assim uma subnotificação nos sistemas de informação. Este fato indica que o vírus rábico silvestre – compatível com a variante 3, tem circulado no estado representando assim um grande risco para a população humana. As notificações de agressões a humanos, os casos de raiva em morcegos, a ocorrência de raiva em herbívoros, dentre outros fatores, evidenciam o registro de um caso humano no município de Tapurah, diagnosticada por variante compatível de animal silvestre (variante 3) com sugestiva transmissão por cervídeo. Estas situações discutidas, sugerem que outros casos suspeitos de raiva poderão ocorrer, sendo necessária e de fundamental importância a implementação de ações de vigilância e condutas oportunas frente a contato por morcegos e outros animais silvestres, sinalizando um alerta a toda sociedade sobre o risco de transmissão da doença por estas espécies. Este estudo teve como incentivo os trabalhos desenvolvidos pelos professores Wilson Uieda e Ricardo Moratelli Rocha, e o apoio institucional da Secretaria Estado de Saúde do Estado de Mato Grosso. **Palavras-chave:** Raiva, Vigilância, Animais Silvestres, Quirópteros.

PT.065

PHOSPHOPROTEIN P GENE IS NOT ASSOCIATED WITH RABV INCUBATION PERIOD AND LETHALITY

Fahl WO¹, Scheffer KC¹, Iamamoto K¹, Carnieli Jr P¹, Castilho JG¹, Oliveira RN¹, Carrieri ML¹, Kotait I¹, Brandão PE² – ¹INSTITUTO PASTEUR – VIROLOGIA, ²Universidade de São Paulo – FMVZ-USP

The phosphoprotein P is multifunctional and the less conserved among *Rabies virus* (RABV) proteins, associated with the ribonucleoprotein (RNP), with a role in the binding of the polymerase L in the RNP. Interactions involving P are related to RABV tropism, the cell-to-cell virus spread and inhibition of innate immune response that interferes with or stops the replication of viruses. P is also involved in the trans-axonal transport of RABV and interferon (IFN) inhibition, which could modulate the pathogenesis viral. There are hypotheses that the RABV proteins polymorphisms can lead to variations in the replication efficiency of different strains of RABV in different hosts, culminating in variable viral titers, modulating viral pathogenesis and leading to different efficiencies of intra-axonal transport and function as a co-factor in the synthesis of viral RNA. However there is still much to be clarified on this subject. To this end, 29 RABV strains from bats of the genus *Artibeus* sp. isolated in mouse brain were selected with variable lethality (LET) and incubation periods (IP) in days after inoculation in the central nervous system of mice. The samples were subjected to titration in N2a cell cultures and complete sequencing of the P gene. Data analysis including LET, IP and titer in association with the pattern of segregation of the viral strains studied in the phylogenetic tree showed no association between these variables and polymorphisms of the P Gene. It can be speculated that other proteins, such as the polymerase L, currently under consideration by the authors, may have an important role in the modulation of incubation and lethality, when considering viral strains that are very closely related regarding the P gene. This information is applicable for discussions about the importance of rabies reservoirs, the dynamic of the virus and the different forms of host-virus co-evolution, contributing to further studies on RABV pathogenesis. Financial Support: Instituto Pasteur de São Paulo and CAPES

PT.066**SURVEY OF THE SPATIAL DISTRIBUTION OF BATS ACCORDING TO TYPE AND POSITIVE FOR RABIES IN BOTUCATU-SP THE PERIOD 2006 TO 2011.**

Langoni H, Menozzi BD, Vitória C

Bats are considered to be the main transmitters and disseminators of rabies virus in Brazil's urban centers, particularly in regions where canine rabies has been controlled. This brings up a great fear for the public health authorities in the country about this disease, which would be the possible reintroduction of rabies in domestic animals due to easier interaction with the bats, and also from contact with humans. Clearly increasing the number of cases of various species of bats that were diagnosed as positive for rabies throughout the country especially in the state of São Paulo. The municipality of Botucatu – SP is located in the midwestern region and is located at 22 53 09 south latitude and 48 26 42 west longitude, 804 meters above sea level, and makes an important surveillance work, since 2003, where animals are collected on public roads or residences and then are submitted for diagnosis at Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of UNESP, Botucatu, where is installed the Zoonosis Diagnostic Laboratory. Among theirs 2006 and 2011 where received 984 bats for diagnosis, being in 2006, 278 bats, 182 in 2007, 115 in 2008, 116 in 2009, 166 in 2010 and 127 in 2011. Only in 2008 and 2011 did not find positive for rabies bats. In others years there were 11 positive diagnoses, characterized at least three genres: *Artibeus*, *Myotis* and *Nyctinomops* and two species, *Artibeus lituratus* and *Myotis nigricans*. The positive bats (all non-hematophagous) are distributed in the central part of the city, in areas with large trees, two creeks that surround the city. In the spatial distribution of species in the country, we find the homogeneous distribution of at least 40 genus/species of bats, being the most frequent 55% (557) belonging to the genus *Molossus*, including species *Molossus molossus* and *Molossus rufus*, distributed in equal uniformity throughout the municipality. Revealing that although this distribution, and the large number of genera/species involved, the virus is restricted to only five genera/species, also restricted to the central area of the municipality. Also important to highlight the nonpositivity of the bats of the genus *Molossus*, despite being the greater quantity and better distributed by county. 1 UNESP – São Paulo State University – Veterinary Medicine and Animal Production College – Public Health and Veterinary Hygiene Department – Botucatu – SP, Brazil.

PT.067**ESTUDO DO VÍRUS RÁBICO EM INDIVÍDUOS E COLÔNIAS DE QUIRÓPTEROS NO RIO GRANDE DO SUL BRASIL**Pacheco SM¹, Rosa JCA², Ferreira JC², Batista HBCR³, Rigoletti R², Roehe PM^{2,4} – ¹Instituto Sauver, ²FEPAGRO – IPVDF, ³Instituto Pasteur, ⁴UFRGS

O número de espécies de quirópteros infectadas pelo vírus da raiva (RABV) tem sido crescente. Até o momento, 42 espécies de três famílias foram identificadas no Brasil. Os dados sobre a prevalência do vírus nestas espécies e a importância destas na manutenção dos diferentes ciclos da raiva, ainda são escassos. O Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF/FEPAGRO) é referência para o diagnóstico de raiva no Rio Grande do Sul (RS), sul do Brasil. Desde agosto de 2007 o IPVDF/FEPAGRO faz a identificação morfológica dos quirópteros enviados ao diagnóstico de raiva, cujos espécimes são provenientes de diversos municípios do Estado. A identificação das espécies de quirópteros é fundamental tanto para avaliar a circulação do RABV, como para identificar possíveis impactos do estresse nas colônias de quirópteros das diferentes espécies. De 2007 a 2011 houve 47

morcegos positivos para o RABV variando de 07 a 13 indivíduos/ano. Cerca de 300 morcegos/ano foram enviados ao Laboratório de Virologia do IPVDF/FEPAGRO para o diagnóstico de raiva, provenientes de 115 municípios. Das 38 espécies que ocorrem no RS, nove foram identificadas infectadas com o RABV. As espécies são *Artibeus lituratus* e *Desmodus rotundus* pertencentes à família Phyllostomidae; *Eptesicus furiensis*, *Histiotus velatus*, *Lasiurus ega*, *Myotis levis* e *Myotis nigricans* da família Vespertilionidae, e representantes da família Molossidae, *Molossus molossus* e *Tadarida brasiliensis*. As espécies *A. lituratus*, *E. furiensis* e *Lasiurus ega* foram relatadas como agressoras. Porém, tal agressão ocorreu no momento da captura. As outras espécies identificadas positivas para o RABV não apresentaram relatos de agressão, apesar de terem sido identificadas muitas fraturas ósseas e cranianas (às vezes, quase sem cérebro), lesões internas (órgãos com hematomas) ou carcaças secas. As espécies *Molossus molossus* e *Tadarida brasiliensis* são as espécies mais frequentes com diagnóstico positivo para raiva e, também as mais comuns no Rio Grande do Sul. Nos últimos dois anos (2010- 2011) o IPVDF/FEPAGRO vem recebendo indivíduos provenientes de colônias e, então, é realizada a análise a fim de verificar se as colônias possuem circulação do vírus rábico. Os resultados mostram que colônias até 70 indivíduos não possuem morcegos positivos; no entanto, em alguns casos, morcegos encontrados mortos e provenientes de colônias com mais de 500 ou 1000 morcegos, possuem indivíduos positivos, e nesse caso, a espécie é *T. brasiliensis*. Os dados demonstraram que nem sempre os relatos de agressões por morcegos estão relacionados com a infecção pelo RABV. Portanto, estudos devem ser realizados para avaliar se o impacto na remoção dos morcegos de seus abrigos diurnos, sem aguardar sua dispersão natural e sazonal, acarreta o aumento do estresse nas colônias, e consequente queda na imunidade, que pode influenciar no aumento do número de indivíduos infectados pelo RABV.

PT.068**BEHAVIOR FOR SIX YEARS OF ATTACKS A HUMAN BY VAMPIRE BATS IN NORTHERN JALISCO, MEXICO, AFTER THE IMPLEMENTATION OF AN INTENSIVE CAMPAIGN TO CONTROL THIS POPULATION AND ITS RELATIONSHIP WITH THE EXISTENCE OF REFUGES AND LOCAL LIVESTOCK NEARBY.**Morales Rodríguez JA¹, González López AA¹, Rodríguez Cobián FJ² – ¹Secretaría de Salud Jalisco – Región Sanitaria ⁰¹ Norte Colotlán, ²Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de Jalisco – Distrito de Desarrollo Rural ⁰⁸

Objective. To determine the behavior for six years of attacks on humans by vampire bats in northern Jalisco, Mexico, after the implementation of an intensive campaign to control their population by using an ointment made of warfarin suspended in vaseline (Vampirinip II), and the relationship of such attacks in the presence of refuges and nearby livestock. **Material and Methods.** From June 2006 to April 2008 was made an intensive search campaign bats refuges in northern Jalisco, recording your location on GPS and applying ointment of anticoagulant only those classified as vampire bats by their external morphological features. In addition, a search was conducted and timely monitoring of attacks on humans by vampire bats during the years 2006 to 2011, and the amount of livestock in the area in the same period to find any relationship between these variables. **Results.** During the six years studied there were 864 attacks on humans by vampire bats. The ten municipalities of northern Jalisco reported attacks, although in different amounts. From 2008 there was a reduction in the number of attacks, with the overall reduction at

the end of 2011, 50%. We identified 551 refuges with bats, but only 13.25% of them had the presence of vampire bats. We obtained a positive correlation between aggression to humans and the presence of refuges in the presence of vampire bats ($r_2 = 0.69$, $p = 0.00$). There was no correlation between aggression and the presence of livestock in the region. The most affected municipalities were Bolaños Chimaltitán and San Martín de Bolaños. **Conclusions.** The ointment of anticoagulant Vampirinip II has proven useful in controlling vampire bats. The nearby refuges identify the presence of these bats, can sensitize the population to carry out strategies to reduce the attacks on human and on local livestock. **Acknowledgements.** The authorities of the Health Region 1 of the Health Department of Jalisco, the Rural Development District 08 of the Ministry of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fisheries and Food of Jalisco, and H. Municipalities of northern Jalisco-Bolaños, Colotlán, Chimaltitán, Huejucar, Huejuquilla el Alto, Mezquitic, San Martín de Bolaños, Santa María de los Angeles, Totatiche and Villa Guerrero- during the years 2006 to 2008, for his technical, methodological and / or financially unqualified support to perform this work.

PT.069

DETECTION OF RABIES VIRUS IN INSECTIVOROUS BATS FROM THE URBAN AREA IN MONTERREY NUEVO LEON, MEXICO

Reyna EJ¹, Pérez JZV¹, Galindo EIG¹, Rosales PC² – ¹Laboratorio Estatal de Salud Pública – Secretaría de Salud del Estado de Nuevo León, ²Centro de Investigación Biomédica del Noreste – Instituto Mexicano del Seguro Social

In Mexico there are 154 species of bats, of these, 37 are distributed in Nuevo Leon, which can be insectivorous, frugivorous, or hematophagous. The most common bat in Nuevo Leon is *Tadarida brasiliensis mexicana*, it is an insectivorous, and it is also the smallest free-tailed bat. There are other species of insectivorous bats, such as *Nycticeius humeralis*, *Myotis* sp, *Lasiurus ega*, *Eumops perotis*, *Antrozous pallidus*, *Corynorhinus townsendii*, *Lasiurus cinereus*, and *Leptonycteris nivalis*, which are useful in maintaining ecological balance, contributes to the spread of seeds, and eat insects that harm agriculture. However, in 1984 the rabies virus was reported in *Tadarida brasiliensis mexicana*, and in 1998 the first human death caused by rabies transmitted by bats insectivorous was reported in Latin America. Between 2009 and 2010, 7 cases of the variant V-9 were diagnosed and they corresponded to the same domestic species, *Canis familiaris* and *Felis catus*. In rural areas of Nuevo Leon, as well as in the urban area of Monterrey there are habitats for different species of bats. Monterrey is the capital of the state and the third most populous city in Mexico, there, the highest number of cases have been detected. Therefore, the objective of this study was to detect cases of rabies in the urban area of Monterrey because of potential risk for humans and domestic animals. During 2011 and 2012, 21 bat samples were analyzed by using immunofluorescence, antigenic characterization and genotyping techniques. Identification of species showed 14 *Tadarida brasiliensis*, 3 *Lasiurus* sp, 1 *Nycticeius humeralis*, 1 *Leptonycteris nivalis*, 1 *Lasiurus ega*, and 1 *Lasiurus cinereus*. From these, 8 bats were positive for rabies virus, and an antigenic characterization was performed using 8 monoclonal antibodies, with this study, the variant 9 (V-9) was the most predominant. Genotyping of *Lasiurus ega* and *Lasiurus cinereus* samples showed 99% of similitude with *Lasiurus intermedius*. This study demonstrates the high prevalence of rabies in insectivorous bats, which threatens both humans and domestic animals, and suggests the implementation of sustainable programs to prevent cases of rabies in these species. Acknowledgements: We

are grateful to Miguel Angel Zuniga, Isabel Aguilar Tavitias and Alma Liliana Lizarán Meneses for their support in the diagnosis of rabies virus. Financial support: This work was supported by the Rabies Program of the Ministry of Health of Nuevo Leon and Health Services of Nuevo Leon.

PT.070

PUBLIC PRODUCTION OF ANTIRABIES VACCINES IN ARGENTINA: AN HISTORIC REVIEW

Perez OR¹, De Filippo J¹, Jurado R¹, Micucci M¹, Rudak L¹, Fernandez G¹, Zanetti F², Calamante G² – ¹ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” – Servicio Vacuna Antirrábica – INPB, ²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) – Instituto de Biotecnología

In 1976, the most important outbreak of rabies occurred in Argentina. The government adopted different strategies to find an answer to this sanitary problem. The main important was a vaccination campaign using first generation vaccines Fuenzalida- Palacios type (FP), that have been produced in rat sucking brain. At national level, this production has been done in the INPB-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” and resulted in an effective control of the outbreak. Until 2009, 100000 human doses (only for national use) and 50000 veterinary doses (only for outbreak control) have been produced per year. Since 2009, and following OPS-OMS’ recommendations, the government is leading for a replacement of FP vaccines for imported second generation ones for human use and stressed vaccination animal campaigns using similar vaccines produced by private vaccine manufactures. Although endemic areas stay in the north of the country, modifications in bats’ migration patterns have to be considered, due to climate changes. This scene entails an urgent need of veterinary vaccines to make a real sanitary impact. Looking after this challenge, we have been developing cell-culture platforms to approach more technological vaccines. The development of veterinary vaccines using BHK cells as substrate has been done on microcarriers cell culture. We have worked with cell densities between 5 and 8 x 10⁶ cells/ml generating, at least, four harvests with titles of 10⁶ LD₅₀/ml or higher. Three consistent vaccine batches have been produced with a potency of 1 IU/dose or higher. For new national vaccines, we have developed a recombinant canarypox virus in collaboration with the INTA. This virus has the glycoprotein rabies gene among its DNA, extracted of CVS-Malbrán rabies strain, developed in our laboratory. The virus is grown over primary culture of chicken embryo fibroblasts. In non avian hosts, these viruses produce a suicidal infection: they can't complete its infection cycle, but there's expression of viral proteins that are processed by host cells, generating a humoral and cellular immune response. This potential vaccine has shown impressive antigenic values, higher than 3.5 IU/ml and the measurement of neutralizing antibodies doesn't decrease significantly after a year. An advantage of these viruses is the resistance to liofilization process using lactose 10 mg/ml without losing its immunogenicity. In this way, we have realized potency assays that show similar values in comparison with not liofilized viruses. By these days, we are working hard in developing another recombinant canarypox virus containing only the rabies nucleoprotein gene. The final objective would be a canarypox antirabies vaccine containing both the rabies nucleoprotein and glycoprotein genes.

PT.071**EMPLEO DE LA TÉCNICA DE PCR EN MUESTRAS CLÍNICAS PARA DIAGNÓSTICO DE RABIA – DESCRIPCIÓN DE CASO**

Robles-Pesina MAG¹, Ramírez-Torres J¹, Venegas-Cureño E¹, Ortiz-Rico A¹, Delgadillo-Álvarez JB¹, Montañó-Hirose JA¹ – ¹Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal (CENASA / SAGARPA / SENASICA) – Carretera Federal México – Pachuca Km 37.5, Tecámac de Villanueva, Estado de México, México

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se aplica exitosamente en el diagnóstico confirmatorio y la vigilancia epidemiológica de la rabia. A pesar de no ser una técnica prescrita por la OIE ni por la OMS, cuando se realiza por personal entrenado y bajo estrictos controles de calidad resulta ser de gran utilidad cuando el diagnóstico por técnicas tradicionales no es muy claro. Adicionalmente, una vez amplificado, el genoma se puede secuenciar para confirmar el origen del virus y proveer información muy valiosa para estudios epidemiológicos y de evolución. A continuación se describe un ejemplo: Se recibió un encéfalo de canideo. La historia sólo refería un animal vacunado, con un cuadro de dos semanas de depresión, pérdida de peso, tristeza y falta de apetito poco antes de la muerte. No hubo exposición de personas. La muestra fue procesada en menos de 24 horas por inmunofluorescencia según la técnica descrita por la OIE (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6th Edition. Paris, France, 2008). Los resultados obtenidos fueron discordantes entre dos técnicos: para uno fue negativa, mientras que otro observó un foco fluorescente en una de las impresiones. La prueba biológica para aislamiento viral en ratones CF1 resultó negativa aun después de un pase ciego y la muestra se dio como negativa al no haber virus viable. Para complementar el diagnóstico, la muestra fue procesada en el laboratorio de biología molecular del Centro, según la técnica descrita por Heaton P.R. (Journal of Clinical Microbiology. Nov. 1997: pag 2762- 2766). Para la validación del proceso de extracción y PCR fue procesada a la par una muestra de virus de rabia vacunal. Adicionalmente, como testigo interno se empleó un juego de primers para detección de ARN 18S 324 pb con la finalidad de descartar la posibilidad de tener un falso negativo debido a posibles factores de inhibición de la muestra. Los productos obtenidos fueron visualizados en un gel de agarosa al 2%. En la muestra problema y en el testigo positivo de extracción se observó un amplificado de 606 pb. Asimismo, se observó una banda de 495 bp en la muestra problema y testigo de extracción. Es bien sabido que la sensibilidad y especificidad de las técnicas de PCR son más elevadas que las técnicas como detección de anticuerpos fluorescentes, inmunoperoxidasa o ELISA. Adicionalmente, no se requiere que el virus permanezca viable para su identificación y clasificación. El eventual estado de descomposición del tejido tampoco presenta un problema para el diagnóstico. Al tener estos primers con la capacidad de identificar seis diferentes genotipos de rabia, se reduce la cantidad de reactivos necesarios para su identificación. Actualmente la muestra está en proceso de secuenciación. Este trabajo fue realizado con recursos del gobierno federal de México, a través de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

PT.072**ESTRATÉGIA DE AÇÃO PARA DIMINUIR O NÚMERO DE TRATAMENTOS ANTIRRÁBICOS HUMANOS PÓS-EXPOSIÇÃO**

Frias DFR¹, Nunes JOR², CARVALHO AAB² – ¹EMBRAPA CAMPO GRANDE, ²UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – Medicina Veterinária Preventiva

A avaliação dos casos de agressão por animais, sem critérios bem definidos, pode levar à indicação equivocada de profilaxia antirrábica. O número de tratamentos pós-exposição, em muitos municípios em todo o Brasil, tem preocupado as autoridades sanitárias. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar os registros e a conduta da profilaxia antirrábica humana no Município de Jaboticabal, no período de 2007 a 2010. Para tanto, foram analisadas as informações das fichas de atendimento e dos resultados de visitas domiciliares e observação dos animais agressores. Os dados foram tabulados em Excel e analisados com softwares EpiInfo e Action. Também calculou-se o custo direto das vacinas antirrábicas humanas aplicadas. Foram elaboradas a nova ficha de atendimento antirrábico humano a ser proposta, a ficha referência de atendimento a agressão animal e a ficha de visita zoonosológica, todas com seus respectivos manuais de instrução para preenchimento. Além disso, foi realizada a capacitação dos responsáveis pela aplicação das mesmas e as visitas zoonosológicas. Em 1366 fichas analisadas, computou-se um agravo para cada 212 habitantes; das pessoas agredidas, 74,3% receberam profilaxia pós-exposição, num total de 1.251 doses de vacina. A análise detalhada dos dados, aliada ao fato de Jaboticabal ser considerada região controlada para a raiva, permitem questionar que 894 pessoas podem ter recebido vacina sem necessidade, totalizando 1094 doses a um custo aproximado de R\$20.134,70. Nas visitas zoonosológicas, constatou-se que, dentre os animais agressores, 78,1% eram domiciliados; 84,4% estavam sadios nos dias zero e após período de observação; 55% dos ataques foram provocados e 73% das agressões ocorreram nas próprias residências. Vale ressaltar que esta pesquisa complementou uma anterior, onde o índice de indicação de tratamento pós-exposição, no período de 2000 a 2006, foi 81,6%. A redução desse índice nos anos seguintes demonstrou que o conhecimento dos dados pelos profissionais envolvidos no atendimento antirrábico humano levou a uma atuação mais criteriosa com consequente diminuição da taxa de indicação de vacinas e de erros no preenchimento das fichas. Conclui-se, então, que uma maior atenção deve ser dispensada ao atendimento a agravos por animais, com adequações na ficha de registro, aplicação das fichas referência de atendimento a agressão animal e de visita zoonosológica. É essencial a interação dos serviços médicos e médicos veterinários e a avaliação de todos os aspectos envolvidos em cada caso; isso dará subsídios e segurança para se instituir o tratamento antirrábico pós-exposição com critério e segurança. Por outro lado, programas educativos sobre comportamento animal, cuidados e posse responsável devem ser intensificados com a expectativa de diminuir o número de casos de agressão animal.

PT.073**ANTI-RABIES ANTIBODIES SEROLOGICAL INVESTIGATION FROM DOGS OF A RURAL AREA IN SÃO PAULO STATE – BRAZIL**

Peres MG¹, Bacchiega TS¹, Martorelli LFA², Kataoka APAG², Vicente AF¹, Apollinario CM¹, Allendorf SD¹, Antunes JMAP¹, Megid J¹ – ¹UNESP – School of Veterinary Medicine and Animal Science – Department of Veterinary Hygiene and Public Health- Botucatu-SP, Brasil, ²Zoonosis Control Center – Rabies Laboratory – São Paulo-SP, Brasil

Rabies is one of the most important zoonoses, with fatal prognosis in almost 100% of cases. It is estimated that every 10 to 15 minutes one person dies from a rabies virus infection and 1000 people receive post-exposure treatment by hour in the world. Dogs are the main transmitters to man by bite, so it is estimated that approximately 55,000 cases of human rabies in the world are caused by dog viral variant. The main preventive measure of human cases is the rabies vaccination campaign of dogs and cats, which was responsible by

the decrease of dog and consequently human rabies number. The last human rabies case caused by canine rabies virus in the state of São Paulo occurred in 1997 and in 1998 the last case canine rabies. In this context the present work aimed to evaluate the effectiveness of protective vaccination of dogs from rural farms in the county of Anhembi – SP, after two years without being immunized against rabies with a vaccine campaign. During 2011 an epidemiological questionnaire was applied to 22 farms to collect data about the health of animals and hygienic handling of property. One hundred percent of dog's owners declared that their dogs only received anti-rabies vaccine during public campaign that was stopped two years before. Fifty one dogs blood samples were collected by jugular vein puncture. The blood collection tube was centrifuged and the serum stored at -20 ° C. Sera were tested for neutralization in cell culture for the determination of neutralizing antibodies to rabies virus by rapid method focus inhibition of fluorescence (RIFFT). Of the 51 analyzed dogs, 68% presented antirabies antibodies titers above 0.5 UI/ml, indicating that they are still protected but on the other hand 32% of analyzed population was detected unprotected and therefore susceptible to infection. Our results agree with literature data that indicates that rabies vaccine induce immunity longer than one two years and consider the revaccination every three years but at the same time demonstrate that a percentage of the animals don't maintain protective titers after two years indicating that the revaccination protocol must be carefully evaluated considering the epidemiological situation.

PT.074

I FÓRUM DE QUALIDADE E BIOSSEGURANÇA NO DIAGNÓSTICO DA RAIVA EM RECIFE: PERSPECTIVAS E MUDANÇAS DE PARADIGMA

Araujo ACR¹, Machado JLM², Ribeiro MGB³, Silva LAM⁴, Oliveira JCT⁵, Gomes ES⁶, Boller MAA⁷ – ¹LACEN/LANAGRO-PE – DIAGNÓSTICO DE RAIVA, ²LACEN/PE/ LANAGRO/PE, ³Universidade Federal de Pernambuco. Centro Acadêmico de Vitória, ⁴Grupo de Estudos de Morcegos no Nordeste (GEMNE), ⁵UFPE/CAV/GEMNE, ⁶Secretaria Municipal de Saúde de São José do Egito, ⁷Fundação Oswaldo Cruz

Diante da necessidade de elencar a situação atual do rebanho e das condições de amostras para raiva no Laboratório Nacional Agropecuário em Pernambuco LANAGRO/PE, amostras estas, potencialmente infectantes que vem sendo expostas de modo indiscriminado em alguns casos, se fez necessária a realização do I Fórum de Qualidade e Biossegurança no Diagnóstico da Raiva, entre os dias 15 e 16 de Novembro de 2011 em Recife-PE. Este Fórum teve como objetivo promover a discussão e o debate sobre a Qualidade e a Biossegurança no diagnóstico da Raiva, destacando de modo inclusivo a coleta, acondicionamento e envio do material, visando ainda a implementação do método para a padronização e conformidades das amostras, garantindo assim a Biossegurança para os profissionais envolvidos direta e indiretamente no monitoramento e controle da Raiva no Estado. Durante o evento, que teve como público alvo Médicos Veterinários, Médicos Sanitaristas, Epidemiologistas, Gestores das Regionais de Saúde e Profissionais envolvidos no controle da Raiva, foram levantados temas relevantes sobre a realidade e por vezes, o obstáculo do envio de amostras de alguns Municípios de Pernambuco. Na ocasião, podemos conceber que, o controle e o monitoramento da raiva, é uma realidade ainda pouco difundida e prioritária em alguns Municípios mais distantes da Capital. A distância geográfica e a ausência de treinamento para profissionais envolvidos, também foi destacado como sendo um dos impedimentos para o envio das amostras. Através das palestras e dados compartilhados com o público, foi elaborada uma pactuação entre os Gestores Municipais e a Secretaria

de Saúde do Estado junto ao LACEN/PE, as estratégias de melhorias para a consolidação da qualidade e biossegurança na Vigilância epidemiológica da raiva. Foi acordado o compromisso do Estado: Acompanhar e orientar os trabalhos de capacitação verificando o cronograma de execução das atividades; Fornecer normas e instruções para execução das atividades; Liberar os recursos financeiros previstos para a execução das capacitações e treinamentos; Proporcionar condições físicas e financeiras para a execução das capacitações e supervisões; Estruturar as Regionais de Saúde para o envio das amostras dos Municípios da sua Regional. As amostras, deverão chegar ao laboratório em condições adequadas de serem trabalhadas e para que isso ocorra, se faz necessário que as Normas de Qualidade e de Biossegurança, sejam obedecidas e os profissionais responsáveis pela coleta, acondicionamento e envio desta(s) amostra(s) tenham o conhecimento básico sobre a zoonose e a técnica de coleta padronizada, através da efetiva realização desta pactuação. Podemos avaliar que, a partir deste evento, e no cumprimento dos acordos entre as partes envolvidas, ocorreu uma melhora significativa. Sabemos que o ideal ainda está em construção mas, o passo inicial se deu, no momento em que a discussão sobre a importância da vigilância epidemiológica da Raiva, foi democratizada e todos se fazem protagonistas nessa luta, que é a erradicação da raiva no Estado de Pernambuco.

PT.075

ANÁLISE ESPACIAL DA EPIZOOTIA DE RAIVA OCORRIDA NO MUNICÍPIO DE CAMPINAS/SP/BRASIL NOS ANOS DE 2.000 A 2.002.

Ramos LHM¹, Donalísio MR², Lourenço RW³ – ¹Prefeitura Municipal de Campinas – Secretaria Municipal de Saúde, ²UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas/Faculdade de Ciências Médicas – Departamento de Saúde Coletiva, ³UNESP – Universidade Estadual Paulista/Faculdade de Engenharia Ambiental

A raiva é uma zoonose que acomete bovinos e equinos (também chamada de raiva dos herbívoros ou dos Animais Domésticos de Interesse Econômico – ADIE), de grande relevância para a saúde pública e animal. É caracterizada por encefalite viral e apresenta elevado coeficiente de letalidade. Nestes animais tem como transmissor o morcego *Desmodus rotundus*. A criação e manutenção de herbívoros ocorre em áreas rurais, com cenários diferentes, isto é, pastagens, matas nativas, reflorestamentos, vales e rios. Ferramentas do geoprocessamento podem ser úteis para o conhecimento da epizootiologia da doença em áreas extensas ou reduzidas. Nos anos 2.000 a 2.002 foi registrada epizootia de raiva em herbívoros em região rural do município de Campinas, todos confirmados laboratorialmente. O objetivo deste trabalho é caracterizar a distribuição espacial dos óbitos de herbívoros e dos abrigos de morcegos hematófagos. A localização e informações dos óbitos animais e dos abrigos de *desmodus* foram coletadas pela Secretaria Municipal de Saúde e pela Secretaria de Agricultura ambas utilizando-se GPS (*Global Position System*). Padronizou o local de óbito a porta de entrada da propriedade em que o animal estava alojado. Foram utilizados os programas computacionais Microsoft Excel®, ArcGIS® versão 9.2, para transferência, e análise dos dados. As variáveis estudadas foram: ano e mês da ocorrência do óbito, espécie animal, localização espacial dos óbitos e dos abrigos de *Desmodus* e tipos de abrigos destes últimos. Foram delimitadas áreas de influência (*buffers*) de 3 km dos abrigos de morcegos. Como resultados, foram georreferenciados 66 (98,5%) registros de mortes de animais em 52 focos, sendo acometidos 40 (59,7%) bovinos e 25 (37,3%) equinos. Não foi evidenciada sazonalidade da doença. Houve deslocamento dos casos na direção sudeste-noroeste, contornando a zona urbana, sugerindo que

esta sirva como obstáculo aos morcegos hematófagos. A maioria dos abrigos localizavam-se próxima a corpos d'água. Foram identificados 10 abrigos de *Desmodus*, todos do tipo artificial. O número médio de morcegos foi de 11 por abrigo. Os *buffers* dos abrigos 3, 5 e 6 concentram a maior número de óbitos registrados. Os resultados mostraram que 25 (37,9%) óbitos estavam contidos em áreas de influência de 3 km de três abrigos próximos (abrigos 3 e/ou 5 e/ou 6). Não foram considerados os abrigos de *Desmodus* localizados nos municípios vizinhos. Verifica-se o caráter rural da doença, porém há vários bairros residenciais circundados pela área rural, o que evidencia o risco de infecção humana. Este trabalho reforça que a incorporação das ferramentas e técnicas de geoprocessamento auxiliam na compreensão da composição da paisagem e padrões ambientais, da ocupação do solo sendo de grande utilidade na vigilância epidemiológica da raiva como de outras zoonoses. Verifica-se a escassez de trabalhos utilizando ferramentas do geoprocessamento e de análise espacial na ocorrência da raiva.

PT.076

DIAGNOSIS OF RABIES AND EASTERN AND WESTERN EQUINE VIRAL ENCEPHALITIDES IN EQUIDS BY MULTIPLEX HEMI-NESTED RT-PCR TECHNIQUE

Iamamoto K¹, Durymanova EA², Carrieri ML¹, Oliveira RN¹, Carnieli Jr P¹, Fahl WO¹, Kotait I¹, Silva MLCR³, Castilho JG¹, Ito FH² – ¹Instituto Pasteur – Diagnóstico, ²Universidade de São Paulo – FMVZ-USP, ³UFCEG-PB – CSTR-UFCEG/PB

Several viral zoonoses affect the equids causing neurological diseases, including rabies and Eastern and Western equine encephalitides (EEE and WEE). Clinical diagnosis is often not conclusive, in a way that laboratory diagnosis is essential. Data from the Laboratory of Rabies Diagnosis at the Pasteur Institute of São Paulo, between 2000 and 2010, demonstrate that approximately 75% of submitted equid samples, which animals presented neurological symptoms, were negative for rabies, emphasizing the importance of achieving a differential diagnosis for equine encephalitis caused by alphaviruses. The aim of this study was to test the suitability of using multiplex hemi-nested RT-PCR for the diagnosis of rabies, EEE and WEE in equids central nervous system samples. We used the primers 21G, 304 and 504 directed to the N gene of rabies virus, and the primers cM3W, M2W, nEEE and nWEE directed the NSP1 gene of WEE and EEE viruses. A preliminary study of the primers was carried out, as well as their use in a hemi-nested RT-PCR, evaluating the optimal annealing temperature, the analytical sensitivity and specificity and the reproducibility of the technique in positive field samples for rabies and EEE. Based on the established protocol for the hemi-nested RT-PCR, variations in reagents concentrations for the multiplex hemi-nested RT-PCR protocol were performed. After establishing the protocol for this reaction, the tests to verify the analytical sensitivity and specificity and reproducibility were performed and the results were compared to those obtained by hemi-nested RT-PCR. In the detection threshold test, the analytical sensitivity was similar for both techniques, resulting in 10^{-1.7} for the three standard virus CVS, EEEV and WEEV. In the detection threshold test using a sample with the three viruses, a high specificity of the primers was verified and the multiplex hemi-nested RT-PCR was able to detect the three viruses simultaneously. There was no difference in the proportions of samples detected as positive for rabies obtained by both techniques, according to the Fisher exact test (P = 1.0000). However, for EEE positive field samples, the proportion of samples detected as positive by the hemi-nested RT-PCR a difference in the proportion obtained by multiplex hemi-nested RT-PCR (P < 0.0001) was observed. Although it was not

possible to use WEE positive field samples in this study, the results suggest that its detection would be possible by multiplex hemi-nested RT-PCR. Thus, data suggest that the multiplex hemi-nested RT-PCR technique could be applied to detect rabies and WEE, but with some limitations for the EEE detection, in a way that new studies will be carried out. Financial support: CNPq and Pasteur Institute of São Paulo

PT.077

IMPLEMENTATION OF THE FLUORESCENT ANTIBODY TECHNIQUE NEUTRALIZATION VIRUS TEST IN RABIES LABORATORY DIAGNOSIS OF PASTEUR INSTITUTE OF SÃO PAULO / BRAZIL

Ferreira JS¹, Trotti ACP¹, Scheffer KC¹, Caporale GMM¹, Silva ACR¹, Chaves LB¹ – ¹Instituto Pasteur – Laboratório de Diagnóstico de Raiva

The Fluorescent Antibody Virus Neutralization Test (FAVN) is used routinely in many laboratories for the reference measurement of rabies virus neutralizing antibodies (VNA) in serum of animals to confirm the efficacy of vaccination against rabies, which is required to authorize the transit of these animals in countries free of rabies. The World Organization for Animal Health (OIE) recommends a VNA titer $\geq 0,5$ IU/mL to ensure that the animal has immunity against the rabies virus. The rabies laboratory diagnosis of Pasteur Institute of São Paulo/Brazil (IP/SP) is a national reference of the Ministry of Health for rabies diagnosis and performs the measurement of VNA in humans and animals serum samples for proof of immunization against rabies. The objective of this study was to implement the FAVN in the laboratory routine of rabies diagnosis at IP/SP using as reference the Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). Initially, the Challenge Virus Standard (CVS) was titrated by the FAVN and RFFIT methods, performing serial dilutions from 10⁻¹ to 10⁻¹² and determining the dilution of 100 TCID₅₀ (50% infectious dose in tissue culture) or 100 FFD₅₀ (50% of the dose forming focus) for FAVN and RFFIT, respectively. A total of 97 serum samples from animals vaccinated against rabies with different ranges of VNA previously titrated by RFFIT, and 15 samples from unvaccinated animals were selected. Statistical analysis of agreement was performed considering the results in a qualitative analysis (< 0,5 and ³ 0,5) using the Kappa test. The CVS titer was 10⁻⁶ in TCID₅₀ for FAVN and 10⁻⁵ in FFD₅₀ for RFFIT. The FAVN showed high specificity with titers < 0,09 IU/mL and LogD₅₀ < 0,83 in samples from unvaccinated animals. Qualitative analysis of the results showed a substantial agreement between the two methods (kappa = 0,66, p < 0,001). The titles of the sera from vaccinated animals were 0,12 IU/ml to 5,92 IU/ml (GM = 0,92 IU/mL) for FAVN and 0,13 IU/mL to 9,55 IU/mL (GM = 1,34 IU/mL) for RFFIT. The dilution factor in LogD₅₀ values varied from 0,74 to 2,27 (GM = 1,55) for FAVN and 1,08 to 2,48 (GM = 1,84) for the RFFIT. The obtained results showed concordance within the parameters of specificity and sensitivity between FAVN and RFFIT methods. In this context, the implementation of FAVN in the rabies diagnosis laboratory IP/SP has a great importance for rabies epidemiological investigation by the VNA evaluation in animal serum samples and may complement the techniques already in use in the IP/SP.

PT.078**PROFILAXIA PRE EXPOSIÇÃO DA RAIVA HUMANA ATENDIDOS NO AMBULATORIO MÉDICO DO INSTITUTO PASTEUR EM 2011**Cunha RS¹ – ¹instituto pasteur

O Instituto Pasteur atende em seu ambulatório médico as pessoas, que por necessidades profissional ou de lazer procuram profilaxia da raiva humana, realizada através de esquema de pré exposição de acordo com a norma técnica específica. O atendimento médico é disponível diariamente, inclusive aos finais de semana e feriados, facilitando o acesso à vacina contra raiva. O esquema de pré exposição consiste na administração de três doses de vacina de células VERO(VERORAB[®]), via intradérmica, nos dias 0, 7 e 28. A avaliação do título de anticorpos neutralizantes pelo método simplificado de soroneutralização é realizada dez dias após a administração da última dose da vacina contra raiva humana. Neste trabalho analisamos os dados obtidos dos prontuários das pessoas atendidas que iniciaram o esquema de vacinação durante o ano de 2011. Foram atendidas 1221 pessoas, sendo 69,50% do sexo feminino e 30,50% sexo masculino, nas seguintes faixas etárias: 16,30% menores de vinte anos, 79,92% entre 20 a 49 anos e 3,77% 50 anos e mais. Quanto às atividades informadas a distribuição foi de 54,50% de profissionais e estudantes de biologia e medicina veterinária; 16,90% de agentes de zoonoses, 11,20% de funcionários de *pet shops*/faculdades/adestradores; 4,60% de viajantes; 5,60% de estudantes de curso técnico de auxiliar de veterinária; 5,20% de voluntários de centro de controle de zoonoses/zoológico e 2,00% a informação não disponível. Do total de pessoas atendidas, 1086 pessoas iniciaram esquema de pré exposição em 2011, e dentre estas 885 (82,87%) completaram o esquema proposto de três doses da vacina contra raiva humana. A avaliação sorológica foi realizada por 610 pessoas (60,93%) e o título satisfatório foi obtido por 96,56%.

PT.079**ESTRATÉGIA DO ESTADO DE SÃO PAULO PARA A VACINAÇÃO CONTRA A RAIVA EM CÃES E GATOS EM SITUAÇÃO DE ABASTECIMENTO PARCIAL DE VACINA**Takaoka NY¹, Reichmann MLB¹, Omoto TM¹, Kotait I¹ – ¹Instituto Pasteur – CCD – SES/SP

A necessidade anual de vacina contra a raiva em cães e gatos para o Estado de São Paulo (ESP) é de 8 milhões de doses, para todas as atividades (campanha, repasse, rotina, bloqueio de foco, esterilização e adoção oficiais etc.). Como em 2010 a Campanha de Vacinação foi suspensa, frente aos eventos adversos pela vacina utilizada, e em 2011 não havia disponibilidade de vacina de boa qualidade, o ESP, assim como outros estados em que a raiva pela variante canina encontra-se controlada, durante dois anos não recebeu outra vacina. Foi necessário, então, o estabelecimento de estratégias para estimular uma melhor vigilância epidemiológica da raiva por parte dos municípios, com o envio de material para diagnóstico laboratorial: a) animais suspeitos, b) que morreram no período de observação por serem agressores, c) com causa de morte desconhecida, d) atropelados e e) percentual dos apreendidos, não regatados ou adotados. No caso de recebimento de parcela da quantidade de vacina necessária, foram priorizados os locais com circulação viral, em qualquer espécie, estabelecendo-se metas de vacinação mais baixas, baseadas nos números de cães e gatos vacinados nos anos de 2007, 2008 e 2009. Foram, também, estabelecidos contatos com o Centro Panamericano de Febre Aftosa e Zoonoses (PANAFTOSA/OPAS/OMS), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FM/USP) e Faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), para viabilizar estudos sobre análises dos fatores de risco da raiva em animais de estimação, tanto por variante de morcego, quanto pela reintrodução da variante canina. A etapa inicial dos estudos deve ser a determinação da proporção de amostras a serem encaminhadas ao laboratório e o aprimoramento das estimativas das populações caninas e, principalmente, felinas. Em início de 2012 o Ministério da Saúde disponibilizou 3 milhões de doses de vacina importada de boa qualidade, para o ESP. Nesta oportunidade, foi efetuada a distribuição, dando prioridade aos municípios que demonstraram circulação viral (2011 e 2012), seguidos dos que vacinaram em 2010 mais de 20% dos cães, com uma estimativa da população canina de pelo menos de 6 mil. Isto, pelo receio de que se as vacinas que viessem a completar o quantitativo necessário tivessem excesso de albumina bovina, propiciando maior possibilidade de choque anafilático aos animais pela hipersensibilidade à vacina anterior. Pela vinda de mais 1.090.000 doses, até meados de julho, foram atendidos 163 municípios, incorporando aqueles com diagnóstico laboratorial positivo para raiva, de fevereiro a meados de julho deste ano, além daqueles com circulação viral em 2009 e 2010. Essa estratégia fez com que os municípios ficassem mais atentos aos sintomas de raiva nos animais, melhorando a vigilância epidemiológica, com mais amostras, de todas as espécies, enviadas para diagnóstico laboratorial e, conseqüentemente, maior quantidade de casos positivos para raiva (2011 – 116 casos e 2012 – 174 casos até final de julho).

PT.080**EVENTOS ADVERSOS PELA VACINA CONTRA A RAIVA EM CÃES E GATOS NO ESTADO DE SÃO PAULO – 2010**Takaoka NY¹, Reichmann MLB¹, Omoto TM¹, Kotait I¹, Gomes LH², Aranda CM³ – ¹Instituto Pasteur – CCD – SES/SP, ²Centro de Controle de Zoonoses do Município de São Paulo, ³Coordenadoria de Controle de Doenças – SES/SP

O Estado de São Paulo (ESP) coordena a Campanha de Vacinação contra a raiva em cães e gatos desde 1975. No início da década de 80, atingiu-se 80% de cobertura vacinal (1 cão para 10 pessoas), com a participação de todos os municípios. A vacina utilizada no período 1975 a 2009 foi tipo Fuenzalida & Palácios. O imunobiológico utilizado nos estados é fornecido pelo Ministério da Saúde (MS), que decidiu em 2010 substituir a vacina por uma produzida em culturas de células BHK, que não deveria causar reação adversa neurológica e propiciaria uma melhor resposta imunológica. No Brasil todo produto de uso veterinário deve ser aprovado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e a vacina adquirida pelo MS produzida por um Laboratório privado nacional tinha registro no MAPA e os lotes foram aprovados segundo parâmetros de potência, inocuidade, esterilidade e vírus residual, conforme recomendações da Oficina Internacional de Epizootias (OIE). É importante destacar que no ESP a campanha de vacinação é realizada pela maioria dos municípios no mês de agosto, antes dos demais estados. Já no final de julho, alguns municípios passaram a referir ocorrência de eventos adversos após a aplicação da vacina; em início de agosto o município de Guarulhos, segundo maior do estado, relatou muitas reações à vacina, suspendendo a campanha e em meados desse mês na capital do ESP, ao iniciar a vacinação, ocorreram inúmeras notificações desses eventos. Diante dessa situação, a campanha de vacinação contra raiva em cães e gatos foi suspensa em 20/08/2010. O município de São Paulo, por intermédio do Centro de Controle de Zoonoses, já contava com uma forma de a população notificar problemas com seus animais após vacinação, fornecendo os dados mais consistentes para essa decisão de suspensão da campanha (altíssima incidência

de evento adverso de quase 3 casos por 1.000 cães vacinados e cerca de 30 por 1.000 gatos vacinados). Do total de animais a serem vacinados em todo ESP (cerca de 6.500.000), aproximadamente 10% receberam a vacina. Foram tomadas providências, dentre as quais se destacam reuniões com especialistas, algumas necropsias dos animais mortos (em Faculdades de Medicina Veterinária), testes em animais de laboratório com diferentes vias de administração, testes de citotoxicidade, assim como dosagem da concentração de saponina e proteínas, por métodos bioquímicos. Os estudos realizados indicavam que a vacina produzia eventos adversos e especialmente a alta concentração de albumina bovina, sendo que esta última poderia ser a causa do problema. Essas providências adotadas pelo ESP, fizeram com que se intensificasse os estudos e fossem realizados mais testes com a vacina, antes de sua liberação, bem como houvesse melhoria no edital de aquisição pelo MS. Atualmente está em mudança o processo de produção da vacina de uso animal, produzida em cultivo celular por laboratório nacional.

PT.081

LAS 5 CLAVES PARA LA PREVENCIÓN DE MORDEDURAS DE PERROS

Gebara RR¹, Gamboa M², Mora R³, Vigilato MA⁴, Tamayo H⁵ – ¹WSPA Brasil (Sociedade Mundial de Proteção Animal), Brasil – Gerente de Programas Veterinários – WSPA Brasil, ²²- WSPA Mesoamérica (Sociedad Mundial para la Protección Animal), Costa Rica – Gerente de Programas Veterinários – WSPA Mesomérica, ³³- WSPA Suramérica (Sociedad Mundial para la Protección Animal), Colombia – Gerente de Programas Veterinários – WSPA Suramérica, ⁴PANAFTOSA/OPS (Organización Panamericana de la Salud) – Especialista em Saúde Pública Veterinária – PANAFTOSA/OPS, ⁵PANAFTOSA/OPS (Organización Panamericana de la Salud) – Coordinador de Zoonoses – PANAFTOSA/OPS

La información es esencial para el éxito de programas de prevención de Rabia transmitida por mordeduras caninas. Estudios científicos demuestran que la mayoría de las mordeduras de perros se dan por un desconocimiento sobre la manera correcta de interactuar con ellos. Las lesiones causadas por mordeduras son un problema global, poniendo a personas en riesgo de contraer enfermedades como la Rabia. Este proyecto busca identificar los mensajes más importantes y relevantes para informar y educar a personas sobre el manejo de los perros usando mensajes simples. Ello busca también prevenir situaciones que pueden desencadenar mordeduras caninas, consecuentemente reduciendo el número de casos de rabia humana. Los principales mensajes identificados como “Las 5 claves” fueron diseñados a partir de una investigación bibliográfica teniendo en cuenta las principales causas de los accidentes por mordeduras y la interpretación principal de los errores del idioma canino. NO LOS MOLESTES: No molestes o acaricies perros cuando estén comiendo, durmiendo o enfermos, o cuando se encuentren con sus cachorros o juguetes; No te acerques a perros que estén dentro de un automóvil, detrás de una reja, amarrados, o que sean desconocidos; No hagas movimientos o sonidos bruscos cerca de perros. ENTIENDE SU LENGUAJE: No te acerques a perros que demuestren miedo. Estos se echan para atrás, se lamen la cara, bajan la cola, echan las orejas para atrás y muestran los dientes; No te acerques a perros agresivos. Estos fruncen los labios, enseñan los dientes, gruñen, se les eriza el pelo y mantienen la cola erguida y erizada. QUÉDATE TOTALMENTE INMÓVIL SI SE ACERCA UN PERRO SUELTO: No corras ni grites. Baja la cabeza y no mires directamente a los ojos del perro; si estás de pie, quédate quieto con los brazos pegados al cuerpo como un tronco; si caes al piso, protege tu cara y vientre y permanece inmóvil como una roca; cuando el perro

haya perdido interés, aléjate lentamente y en silencio. EVITA ACCIDENTES: Los niños siempre deben estar acompañados por adultos cuando estén cerca de un perro, aún si este es conocido; Siempre pide permiso al dueño antes de acariciar a un perro; Antes de acariciar a un perro, permite que huelga tu mano y acarícialo en la espalda o lados del pecho; Mantén tu cara alejada de la cabeza del perro; Si el perro se retira, no trates de retenerlo. EN CASO DE SER MORDIDO, SIGUE ESTAS RECOMENDACIONES: Lava la herida inmediatamente por 15 minutos con abundante agua y jabón; Recolecta información que identifique al perro (incluyendo su estado de vacunación) y a su dueño; Acude al centro de salud más cercano lo antes posible; Informa al centro de salud y a la autoridad sanitaria competente sobre el incidente de mordedura y el lugar en donde se encuentra el perro. No lo molestes, maltrates o mates; La autoridad mantendrá al perro en un lugar seguro con agua y comida para observación. BIBLIOGRAFIA: 1. A community approach to dog bite prevention. American Veterinary Medical Association. Task Force on Canine Aggression and Human-Canine Interactions .Vet Med Today: Canine Aggression Task Force JAVMA, Vol 218, No. 11, June 1, 2001. At : http://www.avma.org/public_health/dogbite/dogbite.pdf 2. Preventing dog bites in children: randomised controlled trial of an educational intervention , Simon Chapman, John Cornwall, Joanne Righetti, Lynne Sung BMJ 2000;320:1512-1513 doi:10. bmj.320.7248.1512 (Published 3 June 2000) At: <http://www.bmj.com/content/320/7248/1512.1.full.pdf> 3. Aspectos epidemiológicos de las mordeduras caninas. Jorge Palacio / Marta Leóna / Sylvia García-Belenguer Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Moncada. Valencia. España. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España. 4. British Kennel Club. In Safe and sound website: http://www2.thekennelclub.org.uk/safe_and_sound.html 5. Centers of Disease Control and Prevention; USA Gov . Dog Bite Prevention . At website: <http://www.cdc.gov/HomeandRecreationalSafety/Dog-Bites/biteprevention.html> 6. The blue dog project – The development of a dog bite prevention programme aimed at young children T De Keuster, K Meints, R Butcher . Journal of Injuries Prevention 10;16:A169, 2010 7. Dog bite prevention: what children know .C A Dixon, E M Mahabee-Gittens, C J Lindsell At : Journal of Injuries Prevention 2010; 16:A169-A170 8. World report on child injury prevention , M. M. Peden, K. Oyebite, World Health Organization, 2008 9. https://ebusiness.avma.org/EBusiness50/files/productdownloads/dog_bite_brochure.pdf 10. Doggone Safe Program. Dog bite prevention through education/Dog Safety for kids at : <http://www.be-a-tree.com> and www.doggonesafe.com 11. http://www.worldrabiesday.org/assets/files/ColoringBook_DogBitePrevention.pdf 12. Humane Dog Population Management Guidance. International Companion Animal Management Coalition. ICAM, 2007. At : www.wspa-international.org 13. Feldman ED, Nelson RW. Canine and feline endocrinology and reproduction. 3 ed. St Louis: Saunders; 2004. p. 1088-90. 14. “Criando um amigo” vídeo. Realização Centro Controle de Zoonoses-SP (Centro Colaborador da OPAS/OMS) -2004. Produção Instituto Nina Rosa e WSPA –Sociedade Mundial de Proteção Animal. 15. “Be safe around dogs” Wake County, North Carolina Human Services pamphlet. 16. “Manual Básico de Tenencia Responsable” Asociación Nacional Protectora de Animales de Costa Rica. 17. “Lenguaje Canino” Sociedad Mundial para la protección Animal, WSPA. 18. http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano10_no2_sit_epidemiol_zoonoses_br.pdf PALABRAS – CLAVE: prevención, mordeduras caninas, rabia 1. Sociedad Mundial para la Protección Animal – WSPA 2. Organización Panamericana de la Salud OPS

PT.082**EVALUATION OF CLINICAL ASPECTS, FLUORESCENT ANTIBODY TEST AND N GENE QUANTIFICATION OF RABV VARIANTS ISOLATED FROM DIFFERENT ANIMAL SPECIES**

Allendorf SD¹, Harary CMA², Vicente AF², Antunes JMAP², Peres MG², Fonseca CR², Megid J² – ¹FMVZ-UNESP – DHVSPMI, ²FMVZ/UNESP – DHVSPMI

The rabies virus (RABV) isolated from different mammals seem to have unique characteristics that influences the outcome after animals get infected. The RABV circulates in nature and is maintained by reservoirs that are responsible for persuading the disease for almost 4,000 years. As different clinical aspects are observed in animals naturally and experimentally infected the aim of this study was to evaluate clinical aspects, quantify the viral replication in brain tissue of experimentally infected mouse associated with FAT results of RABV isolated from 5 animal species. The selected virus were isolated from some of the main reservoirs in Brazil being related to a bat (*Myotis* spp.), to a fox (*Cerdocyon thous*), to a dog (*Canis familiaris*), to a bovine (related to *Desmodus rotundus*) and to a monkey (*Challithrix jacchus*). The mice were 40, female, specific pathogen free (SPF), swiss albino mice, 45 days old that were divided into 5 groups of 6 animals. The intracerebral mouse inoculation was performed with 0,03mL of the inoculums (standard dilution) for clinical observation and sample collection. Although all virus resulted in an infection with 100% of lethality, it is remarkably notated that the time of evolution of some samples is much longer than others variants. When the animals get sick after being inoculated with samples originated from fox and monkey it takes more time to death to occur when comparing to the other studied samples. The monkey and fox samples had similar evolution period, for monkey sample the symptoms initiated after 10 days and the evolution to death of all inoculated animals were of 4 days, in the fox sample the symptoms initiated after 9 days and the evolution in this case was of 8 days. Otherwise the samples isolated from the bat, dog and bovine initiated symptoms after 8 days and had an evolution period of three days. The presence of the RABV was investigated by FAT. The virus was identified by this technique in all samples. Some differences could be observed. The pattern of positivity in some infected tissues is smoother when comparing samples related to dog, fox, and vampire bats. The virus isolated from *Challithrix jacchus* and *Myotis* spp. presented a discrete fluorescence and some points of fluorescence in the tissue, while the samples isolated from the bovine, a variant probably related to *Desmodus rotundus* (V3), the corpuscles were big and with strong fluorescence, such as those observed in canine related samples. In order to quantify the viral replication in the brain of the infected animals the Real Time was performed, the cDNA was made using oligo dt and Super Script II (Invitrogen), and the reaction was performed using GoTaq qPCR Mster Mix (Promega). The dog, fox and bovine sample presented a higher rate of replication, which could be observed by the detection of viral antigen in brain of infected animals. The time to death was not related to the viral replication once the virus isolated from *Cerdocyon thous* presented replication similar to the dog and *Desmodus rotundus* and was the sample with the longest incubation and evolution time. On the other hand virus isolated from monkey had the lowest replication comparing to the other isolated virus followed by the virus isolated from the bat (*Myotis* spp.). This results demonstrated that virus isolated from different species have unique characteristics that can reflect on the viral replication but not necessary on the evolution period and lethality of the infection.

PT.083**EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF RABIES IN HERBIVORES IN THE REGION OF ARAÇATUBA – SÃO PAULO, BRASIL: PRELIMINARY RESULTS**

Alves AJS¹, Carvalho C², Casagrande DKA³, Souza Filho VN⁴, Pedro WA⁵, Queiroz LH² – ¹USP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Doutoranda do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, ²UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, ³UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Mestranda do Programa de Ciência Animal – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, ⁴Coordenadoria de Defesa Agropecuária – SAA/SP – Coordenador do Programa Estadual de Raiva dos Herbívoros – EDA de Bauru, ⁵UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal

Rabies is a major zoonosis of great impact on both economic and public health and veterinary medicine. Rabies in herbivores is distributed in almost all Latin American countries and its control constitutes a major challenge for Livestock Defense. This study aims to make an epidemiological analysis of Rabies in herbivores in rural areas of most municipalities included in the Office of Agriculture and Livestock Defense Araçatuba (EDA). To this end, an epidemiological questionnaire was elaborated and applied to obtain information related to rabies in herbivores. The following variables were analyzed: presence, frequency and period of occurrence of bat bites marks on the animals, the presence and types of shelters for bats; recent occurrence of death of animals with neurological signs on the property, use of vaccine against rabies, use of methods for bats control and environmental change in the area of the property. The results show that out of 111 properties sampled, 23.4% of them observed marks of bat biting in the animals, and of these, 23% observed the marks of bites daily, 4% weekly, 8% monthly and 65% rarely. The observation of bite marks occurs more during the rainy season (73.1%). 11.7% of owners surveyed report the presence of shelters of bats and the main types of shelters are abandoned houses (38%), hollow trees (38%) and others (15%). Only 70.9% of those surveyed vaccinate the animals against rabies and 76.32% of these vaccinate the entire herd. In 4.5% of the properties it was reported the use of some method for the control of bats. Approximately 60% of properties had some kind of environmental change, particularly with respect to the advance of sugarcane in the region. The quantitative variables studied were the number of animals in the properties sampled, according to the kind, with an average of 243 animals per farm (237 cattle and six horses) and median 93 (90 and 3), respectively. We also performed the association between properties where it was found seropositive bats with the variables of the questionnaires, by the method of chi-square test or Fisher. The variables that showed a strong association with seropositivity of bats were the presence of shelter and vaccination. All statistical analyzes were performed using SPSS 20.0. In each of the properties were obtained geographic coordinates using a GPS, allowing a spatial characterization by plotting the points with the help of the program ARCGIS 10.0.

PT.084**A REVIEW OF THE CLASSIFICATION OF RABIES VIRUS LINEAGES MAINTAINED BY INSECTIVOROUS BATS IN BRAZIL**

Oliveira RN¹, Castilho JG¹, Batista HBCR¹, de Paula FC¹, Carnieli Jr P¹, Lima JYO¹, Macedo CI¹, Menozzi BD², Carrieri ML¹, Kotait I¹, Miranda CCP³, Brandão PE³ – ¹Instituto Pasteur, ²Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina de Botucatu, ³Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Little was known about the importance of nonhematophagous bats in the epidemiology of rabies in Brazil and most of Latin America until the 1980s. From that decade on, as canine rabies came under control in many municipalities and molecular and antigenic typing was incorporated in surveillance programs, the importance of nonhematophagous bats in the epidemiology of the disease began to be appreciated in these countries. In Brazil, genetic studies based on gene N have shown that different lineages are circulating in insectivorous bats from the species *Tadarida brasiliensis*, *Nyctinomops laticaudatus* and genus *Myotis*, *Eptesicus*, *Molossus*, *Histiotus* and *Lasiurus*. In most studies, the characterization of these lineages is based on only 264 nt of the carboxyterminal region of the viral nucleoprotein, when the ideal would be to use the complete N gene. The aims of the present study was to review the genetic classification of the RABV isolated from insectivorous bats from Brazil based on current literature, Genbank dataset and new partial DNA sequencing of the nucleoprotein comparing the phylogenetic analysis of N gene based on 1218 nucleotides (nt 203 to nt 1420) with that based on 264 nucleotides (nt 1157 to nt 1420), corresponding respectively to amino acids 45 to 450 and 363 to 450 of the viral nucleoprotein. Phylogenetic analysis demonstrated the existence of at least eleven lineages of RABV associated with different genera and species of insectivorous bats. Nine of these lineages have already been described in literature while two of them were herein characterized for the first time and associated to the genus *Myotis* and *Lasiurus*. There were no differences in the classification of Brazilian strains by comparing the two alignments used, but changes were observed in phylogenetic relationships between the clusters, with bootstrap values always greater regarding the 1218 nt tree. Two sequences of RABV from the genus *Myotis* from Uruguay and Chile did not keep the same classification after the analyses with the two alignment lengths. These findings should be taken into account in molecular epidemiology of rabies, as sources of infections might be determined in a more accurate way and also in the correct use of fragments of the N Gene for the classification of lineages of RABV.

PT.085**IN SITU EVALUATION OF CYTOTOXIC IMMUNE RESPONSE IN CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF HUMAN RABIES TRANSMITTED BY DOG AND VAMPIRE BAT**

Guedes F¹, Fernandes ER¹, Martins JF², Pagliari C³, Duarte MIS³ – ¹Instituto Pasteur de São Paulo – Imunologia, ²Instituto de Infectologia Emílio Ribas, ³Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Introduction: CD8 (+) T cells and natural killer (NK) cells are immune effectors that, by cytokine production or cytotoxicity, help to contain a viral infection. **Objective:** To quantify and compare the T CD8 lymphocytes, natural killer cells and B granzyme expression in central nervous system lesions of human rabies transmitted by dog and vampire bat. **Methods:** Five fragments of central nervous system (CNS) were selected (cortex, hippocampus, basal ganglia, cerebellum and medulla oblongata) from each specimen of

the four human rabies cases transmitted by dog and four cases by vampire bat (*Desmodus rotundus*). The fragments were subjected to immunohistochemistry with antibodies for CD8, CD57 and B granzyme. For each specimen, cells were quantified by counting the number of immunolabelled cells in thirty fields considering the parenchyma. For normalizing, a x10 ocular lens was used with a square grid in a x40 objective marking an area field of 0.0625 mm². Statistical analysis was performed by Graph Pad Prism version 5.0 for Windows (Graph Pad software, San Diego, Ca, U.S.A.) using the nonparametric Mann-Whitney test. Samples were considering different at the 95% (p≤0.05) level of significance. **Results:** The number of CD8+ T lymphocytes in human rabies transmitted by dog was lower (p<0.0001) than in those with human rabies transmitted by vampire bat. No significant difference in the number of CD57+ natural killer cells (p>0.05) and the number of B granzyme-expressing cells (p>0.05) was observed between samples evaluated of the human rabies transmitted by dog and vampire bat. **Discussion and Conclusions:** In the present study, we compared lesions in CNS of human rabies transmitted by dogs and vampire bats by quantitative examination of the “in situ” cytotoxic immune response. Rare NK cells and B granzyme-expressing cells in cerebral parenchyma were observed, but there were no significant statistical difference between the human rabies transmitted by dog and vampire bat. This could reflect an immune evasion mechanism triggered by rabies virus, preventing these cells arrive at the site of injury, or that their cytotoxic function would be altered. CD8+ T lymphocytes were more abundant in the human rabies transmitted by vampire bat, which appeared related to the viral variant type involved in infection, however eventually the function these cells may be impaired. So, we can speculate if this fact also could be due to longer survival of these patients compared to those bitten by dog.

PT.086**CELLULAR GROWTH IN DIFFERENT BIOREACTORS TO RABIES VIRUS PRODUCTION**

Lantieri VS¹, Medeiros FM², Frazatti-Gallina NM² – ¹Instituto Butantan – Seção de Raiva, ²Instituto Butantan – Seção de Raiva

The scaling up of virus production process involves different challenges, mainly when is used an animal cells origin with a substrate. The growing of the animal cells in high densities depends on the beads and these cells present high susceptibility to the shear stress that occurs in the process realized in bioreactors. The objective of this study was to evaluate the growing of Vero cells in the scaling up process of rabies virus production in bioreactor. Two bioreactors were used in this study, one of 30 L (Bio Flow 4500, NBS) and other of 150 L (Bio Flo PRO Industrial, NBS). These bioreactors have different agitation systems: while the 30 L has a “Cell Lift Impeller”, the industrial, one STR, has pitched blade impellers. This difference was important to select the velocity of agitation necessary to maintain the beads in suspension and to minimize the shear stress and bead collisions. Vero cells added to solid microcarriers, Cytodex 1 (2g/L), infected with PV rabies virus (MOI 0,02) were cultivated in serum-free medium VP SFM AGT in the two bioreactors. Were realized seven cycles in each bioreactor type and the initial cellular concentration was 13-14 cell/microcarrier. Supernatants of these cultures were harvested on days 2 and 3 after start the cycle of production. Samples of these cultures were taken every day during the production cycle to determine the cellular concentration. It was studied too the cellular loss in the first day after the cell inoculation to analyze the cell difficulty for spread on the microcarriers. The averages of the values of cell specific grow rate found before the harvest beginning were 0.025 h⁻¹ and 0.023 h⁻¹ in the industrial and 30 L bioreactors respectively. The percentage

averages of cellular loss in the first day after cell inoculation were 37% (\pm 16%) in the industrial bioreactor and 52% (\pm 21%) in the bioreactor of 30 L. The analyze of the data found to cell specific grow rate and cellular loss in the rabies virus production cycles showed that the spread and growth cellular were not affected by the blades of the impeller of industrial bioreactor. In conclusion, the expansion of Vero cell growth for rabies virus production in bioreactor of 150L was satisfactory because in this system the values of cellular loss and cell specific growth rate were similar or better than the values found in the 30 L bioreactor. Financial support: Fundação Butantan

PT.087

AVALIAÇÃO DAS VACINAS ANTIRRÁBICAS VETERINÁRIAS, NACIONAIS E IMPORTADAS REALIZADAS PELO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DO BRASIL NO PERÍODO DE 2009 A 2011

Campos APG¹, Gonçalves G¹, Zaroni MMH¹, Sirineu JC¹, Buzatto DF¹, Faria AM¹ – ¹Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – Lanagro-SP – Controle de Vacinas Antirrâbicas

Introdução e objetivo: No Brasil as vacinas a serem usadas na profilaxia da raiva animal são submetidas a controle por órgão governamental. Em cada lote de vacina nacional e importada são realizadas amostragens destinadas à análise fiscal. Dentre os testes aplicados estão o de esterilidade, inocuidade, inativação viral, pH e o teste de NIH. Para o teste de NIH faz-se a determinação da dose efetiva (DE₅₀) capaz de proteger 50% dos camundongos vacinados com a vacina a ser testada e uma vacina referência. A partir da comparação estatística entre a DE₅₀ das duas vacinas, calcula-se a potência relativa da vacina teste. A análise fiscal das vacinas, realizada pelo MAPA no Lanagro-SP, é de extrema importância, uma vez que, promove os interesses nos objetivos da saúde pública, economia e para a indústria produtora indica pontos críticos que são merecedores de melhorias. Deste modo, foram realizadas estatísticas descritivas dos resultados obtidos dos lotes de vacinas amostradas entre 2009 a 2011. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho das mesmas, além de comparar as vacinas nacionais e importadas. **Resultados:** Durante este período foram realizados 227 testes, nos quais foram avaliadas amostras de lotes de 14 tipos de vacinas importadas e 18 nacionais (com seus respectivos lotes). As vacinas nacionais totalizaram 592 partidas e as importadas 154. O teste de inocuidade, que avalia a toxicidade da vacina antirrâbica, inativação viral e a mensuração do pH, não apresentaram reprovação. Por sua vez, o teste de esterilidade apresentou em média 0,5% de reprovação nas vacinas nacionais. No teste de NIH as vacinas apresentaram em média 9% de reteste interno (RI). Em 36% dos testes a DE₅₀ da VRN estavam fora dos limites estabelecidos e em 16% a DL₅₀. A avaliação pelo NIH mostrou que 22% das vacinas nacionais não apresentaram nenhuma reprovação, nas importadas 86% apresentaram-se satisfatórias. Para diferenciar o desempenho das vacinas, quanto à potência relativa, estas foram separadas nos grupos: “vacinas com 100% de aprovação” e “vacinas com alguma reprovação”. As potências médias de cada vacina, por grupo, foram comparadas por um teste estatístico de comparações múltiplas de médias. O 1º. Grupo foi constituído por 11 tipos de vacinas importadas e cinco nacionais, com destaque a um tipo de vacina importada que é distinto dos outros 15, devido a sua variabilidade da potência (superior) relativa e sua média. No 2º. Grupo foi composto por 13 tipos de vacinas nacionais e três importadas, diferenciando-se em oito tipos de comportamento com relação a potência relativa. **Conclusão:** Os produtos avaliados atenderam aos critérios de aceitabilidade de acordo com a Portaria Ministerial nº288, contudo

considerando os diferentes produtos e espécies a que se destinam, as vacinas importadas demonstraram o maior índice de aprovação. Ressalta-se a necessidade de uniformidade e consistência nos produtos a fim de se obter vacinas de elevada capacidade imunogênica, assim como, desenvolvimento de métodos para avaliar a qualidade do antígeno e concentração proteica nas vacinas avaliadas. **Agradecimento:** MAPA.

PT.088

DOGS AND CATS RESCUED IN A SMALL BRAZILIAN CITY: POTENTIAL RABIES TRANSMITTERS

Babboni SD¹, Fornazari F², Gonzalez GK¹, Modolo JR³ – ¹Environmental Health Surveillance Department, Municipal Prefecture of Botucatu, São Paulo State, Brazil., ²School of Veterinary Medicine and Animal Science – UNESP – Botucatu – Veterinary Hygiene and Public Health, ³School of Veterinary Medicine and Animals Science – UNESP – Botucatu – Veterinary Hygiene and Public Health

Domestic dogs and cats are the most important rabies transmitters to men in Brazil. Besides the annual vaccination realized by the public service, many animals remain unprotected and exposed to rabies. Stray animals are even more vulnerable to rabies due to sanitary conditions which they are exposed, such as contact with bats, bite injuries caused by other stray dogs and cats potentially infected, and absence of vaccination. Towards these facts, the population of domestic dogs and cats is an important aspect in rabies prevention. The present study aimed to analyze the number of dogs and cats rescued in a small Brazilian city. The study was realized in the city of Botucatu (22°53'09"S 48°26'42"W), São Paulo State, Brazil, which comprises an area of 1,482.87 km², and has a human population of approximately 127,370 hab.. The city realizes annual vaccination campaign against rabies since 1968, and the last positive diagnosis for rabies in a dog was in 1985. Although canine/feline rabies remain controlled since this date, the infection is present in bats, bovines and horses, as confirmed by several positive diagnosis performed annually. The animal rescue is performed by the Environmental Health Surveillance Department of the Municipal prefecture, and includes stray or unwanted animals. The last group consists mostly of dogs and cats abandoned by their owners, usually declaring a severe disease, lack of physical space, excessive aggression, among others. Data were recorded from the department's files. The number of rescued animals was as follow: in 2006 – 2,298 dogs and 560 cats; in 2007 – 2,066 dogs and 533 cats; in 2008 – 1,271 dogs and 421 cats; in 2009 – 688 dogs and 149 cats; in 2010 – 655 dogs and 204 cats; and in 2011 – 641 dogs and 199 cats. These results show a great number of animals rescued by the public service in Botucatu. A decrease in the number of animals was observed along the years, especially after 2009. This fact is a result of a municipal law (number 12.916) established in 2008, which defined new criterions for animal euthanasia, and consequently reduced the amount of this procedure. As a consequence, the Environmental Health Surveillance Department adopted a new policy, and started to rescue only stray animals causing public disturbance or visibly sick. Unwanted animals, which were frequently ordered to be euthanatized (by their owners) before 2008, were also not allowed to be rescued. Thus, the reduction of rescued animals led to a decrease in euthanasia procedures, which is in accordance with the new law. The results of this new measure, as well as the law, were not evaluated, and one must consider the possible increase of stray animal population, and also the risk of rabies infection. The responsible ownership is an important aspect that must be evaluated after the implement of this new policy, once that unwanted animals are not being allowed to be abandoned and sent to the Environmental Health Surveillance Department.

PT.089**CONHECIMENTO SOBRE RAIVA AVALIADO A PARTIR DE ALUNOS DO 2º ANO FUNDAMENTAL DE UMA ESCOLA MUNICIPAL DE JABOTICABAL/SP**

Moraes FC¹, Picinato MAC¹, Grisólio APR¹, Nunes JOR¹, Frias DFR¹, Cruz CA, Meirelles-Bartoli RB², Rodrigues TO³, Bürger KP¹, Carvalho AAB¹ – ¹FCAV/UNESP/Jaboticabal/SP, ²Universidade Federal de Goiás, ³DAPSA/FMVA/UNESP/Araçatuba/SP

Jaboticabal possui uma população urbana estimada em 70.000 habitantes, a qual convive com uma grande concentração de cães e gatos, sugerindo a necessidade de conhecimento sobre controle da reprodução desses animais, posse responsável e prevenção de importantes zoonoses. Neste cenário, teve origem o projeto “Formação de multiplicadores em controle de zoonoses urbanas e em posse responsável de animais de estimação no Município de Jaboticabal/SP”, que se encontra em execução como projeto piloto em uma escola do município, possibilitando a aprendizagem de educandos, por meio de um curso semi-presencial de 180 horas, com posterior interação e disseminação desses conhecimentos aos alunos, tornando-os transmissores de informação para a sociedade. Por constituir a raiva urbana uma importante zoonose e anualmente ser responsável por milhares de mortes de seres humanos nos países não industrializados, ela se torna um grave problema de saúde pública em inúmeras regiões do mundo, tendo o cão como um dos principais reservatórios e fonte de infecção. Assim, parte deste projeto teve como objetivo avaliar o conhecimento prévio dos escolares do 2º ano fundamental de uma escola municipal da cidade de Jaboticabal/SP sobre a raiva, partindo do princípio de que a escola é responsável pela formação de cidadãos conscientes, críticos e ativos na sociedade. Visto que o contato direto com cães e outros possíveis reservatórios é cada vez mais frequente, foi desenvolvido e aplicado um questionário a 43 alunos do 2º ano fundamental, questionando se possuem animais domésticos em sua residência, histórico de vacinação contra raiva e se existe o conhecimento por parte desses alunos sobre essa enfermidade. Os resultados obtidos demonstraram que 95,34% dos entrevistados possuem animais de estimação e que, apesar de 35% desses animais ter livre acesso a rua, 13,95% dos alunos afirmaram que seus cães e gatos não são vacinados contra raiva e 27,90% disseram nunca ter ouvido falar sobre a doença. Os entrevistados também responderam sobre a ocorrência de acidentes (mordeduras) entre seus familiares, observando uma porcentagem significativa de 18,60% de acidentes relatados oriundos de ataques sofridos pelo próprio animal de estimação e 16,27% causados por animais desconhecidos. Esses dados são preocupantes, uma vez que o contato entre essas crianças e seus animais é muito próximo, e sem um controle efetivo com a vacinação o risco de infecção persiste necessitando abordagens escolares sobre esta e outras importantes zoonoses, as quais os alunos estão susceptíveis.

PT.090**A RETROSPECTIVE STUDY OF ANIMAL RABIES DIAGNOSIS IN THE CENTRAL REGION OF SÃO PAULO STATE, BRAZIL, DURING A 10-YEAR PERIOD**

Langoni H¹, Fornazari F¹, Marson PM¹, Guimarães FF¹, Menozzi BD¹, Da Silva DB¹, Paiz LM¹, Wanderley GG¹, Cavalcante RV¹ – ¹School of Veterinary Medicine and Animal Science – UNESP – Botucatu – Veterinary Hygiene and Public Health

Several species of domestic and wild animals can transmit rabies to men. The epidemiology present different patterns according to each region, and the identification of infected animals has great importance to assist prophylactic measures. The present study consists in a retrospective of animal rabies diagnosis realized by the Zoonoses Diagnosis Service (ZDS), from the Veterinary Hygiene and Public Health Department, located at the School of Veterinary Medicine and Animals Science (FMVZ), São Paulo State University (UNESP), Botucatu city (22°53'09”S 48°26'42”W), Brazil. The ZDS is linked to Pasteur Institute of São Paulo State, contributing to rabies control. Most of the samples submitted to rabies diagnosis (over 95%) come from cities located in the central region of São Paulo State, which is the most populous State of Brazil (around 41,252,160 habitants), has a territory of 248,209.426 km², and its animal trade has great importance in the national economy. The immunofluorescent antibody test (IFAT) and the bioassay in mice were the laboratorial tests employed for rabies diagnosis. Data were recorded from 2002 to 2011. A total of 5146 samples were analyzed (2,409 bats, 1,669 dogs, 512 cats, 329 bovines, 100 terrestrial wild mammals, 95 horses, 38 sheep, 19 goats and 6 pigs). The species that presented positive diagnosis were bats (n=24), bovines (34), horses (n=6) and pigs (n=1), totalizing 65 positive animals. The proportion of positivity among each species were: 1.0% for bats (24/2409), 10.3% for bovines (34/329), 6.3% for horses (6/95), 16.6% for pigs (1/6) and 0.0% for dogs, cats, sheep, goats and terrestrial wild mammals. The results indicate that bovines, horses and bats are infected by rabies virus in this region. Although the proportion of positive pigs was high (16.6%), only 6 animals were sampled, and a study including a representative number of pig samples could provide a more reliable data, not only for pigs but also for sheep, goats and terrestrial wild mammals. Bats presented a lower proportion of positive animals when compared to bovines and horses. This fact is a result of the high number of bats submitted to rabies diagnosis without clinical suspiciousness of the disease, since any bat found in urban areas by the Environment Health Department of the city is sent to rabies diagnosis. The absent of positive dogs and cats indicates the success of the preventive measures adopted for these species in the last years, especially the municipal vaccination campaigns, whose focus are these animals.

Normas para publicação

- As colaborações enviadas à **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia** na forma de artigos, pesquisas, nota prévia, comentários, atualizações bibliográficas, relatos de casos, notícias e informações de interesse para a classe médica veterinária e de zootécnicos devem ser elaboradas utilizando softwares padrão IBM/PC (textos em Word for DOS ou Winword, até versão 2007; gráficos em Winword até versão 2007, Power Point ou Excel 2007) ou Page Maker 7, ilustrações em Corel-Draw até versão X3 (verificando para que todas as letras sejam convertidas para curvas) ou Photoshop até versão CS4.
- **Revisão:** Os artigos de revisão tem estrutura livre, de acordo com os objetivos do(s) autor(es) e da Revista, o artigo de Revisão deve apresentar avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto. De preferência, a estrutura deve contemplar o resumo, a introdução e os objetivos, as fontes consultadas, os critérios adotados, a síntese dos dados, conclusões e comentários.
- **Artigo técnico:** Contribuição destinada a divulgar o estado da arte e da ciência em assuntos técnico-científicos que envolvem a Medicina Veterinária e Zootecnia. Trata-se de abordagem contemplando informações com o objetivo de educação continuada, uma vez que contribuições científicas com resultados de pesquisas originais devem ser publicadas em revistas especializadas e com corpo e perfil editorial específico. A estrutura é livre, devendo conter o resumo, a introdução, os objetivos do artigo e referências.
- **Relato de caso:** Serão aceitos para publicação os relatos que atenderem os objetivos da educação continuada nas áreas da Medicina Veterinária e da Zootecnia. Estrutura: Introdução, Descrição do Caso, Discussão e Conclusões, Referências.
- **Ensaio:** Estudos teóricos de determinados temas apresentados sob enfoque próprio do(s) autor(es).
- Com a finalidade de tornar mais ágil o processo de diagramação da Revista, solicitamos aos colaboradores que digitem seus trabalhos em caixa alta e baixa (letras maiúsculas e minúsculas), evitando títulos e/ou intertítulos totalmente em letras maiúsculas. O tipo da fonte pode ser Times New Roman, ou similar, no tamanho 12.
- Os gráficos, figuras e ilustrações devem fazer parte do corpo do texto e o tamanho total do trabalho deve ficar entre 6 e 9 laudas (aproximadamente nove páginas em fonte Times New Roman 12, com espaço duplo e margens 2,5 cm). No caso dos artigos de revisão, em casos excepcionais, o tamanho total do trabalho poderá ser superior a nove páginas.
- Do trabalho devem constar: o nome completo do autor e coautores, nome completo das instituições às quais pertencem, summary, resumo e palavras-chave.
- As referências bibliográficas devem obedecer às normas técnicas da ABNT-NBR-6023 e as citações conforme NBR 10520, sistema autor-data.
- Para a garantia da qualidade da impressão, são indispensáveis as fotografias e originais das ilustrações a traço. Imagens digitalizadas deverão ser enviadas mantendo a resolução dos arquivos em, no mínimo, 300 pontos por polegada (300 dpi).
- O primeiro autor deverá fornecer o seu endereço completo (rua, no, CEP, cidade, Estado, país, telefone, fax e e-mail), o qual será o canal oficial para correspondência entre autores e leitores.
- Os trabalhos deverão ser encaminhados exclusivamente on-line para comunicacao@crmvsp.gov.br.
- Recebido o trabalho pela Redação, será enviada declaração de recebimento ao primeiro autor, no prazo de dez dias úteis. Caso isso não ocorra, deve-se entrar em contato com a Assessoria de Comunicação do CRMV-SP pelo telefone (11) 5908-4772.
- Arquivos que excederem a 1 MB deverão ser enviados zipados (WinZip ou WinRAR).
- Será necessário que os colaboradores mantenham seus antivírus sempre atualizados.
- As colaborações técnicas serão devidamente analisadas pelo Corpo Editorial da revista e, se aprovadas, será enviada ao primeiro autor declaração de aceite via e-mail.
- As matérias serão publicadas conforme ordem cronológica de chegada à redação. Os autores serão comunicados sobre eventuais sugestões e recomendações oferecidas pelos consultores.
- Não serão remetidos trabalhos via fax.
- As matérias enviadas para publicação não serão retribuídas financeiramente aos autores, os quais continuarão de posse dos direitos autorais referentes às mesmas. Parte ou resumo das matérias publicadas nesta revista, enviadas a outros periódicos, deverão assinalar obrigatoriamente a fonte original.
- Quaisquer dúvidas deverão ser imediatamente comunicadas à redação pelo e-mail comunicacao@crmvsp.gov.br.



Dúvidas

comunicacao@crmvsp.gov.br

Uma ferramenta para auxiliar o profissional

Base Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia - Vet Index

Indexa artigos publicados em periódicos científicos nacionais

Base Nacional de Teses (em desenvolvimento)

Catálogo de dissertações e teses defendidas em todas as instituições de ensino brasileiras

LIS - Localizador de Informação em Medicina Veterinária e Zootecnia

Catálogo de fontes de informação em saúde disponível na internet

Agenda de Eventos e Cursos

Catálogo nacional on-line contendo os eventos e cursos nacionais e internacionais em Medicina Veterinária e Zootecnia

Revistas Eletrônicas

Revistas científicas eletrônicas de acesso gratuito (open access) das áreas de Medicina Veterinária e Zootecnia

Busca Integrada

Busca simultaneamente artigos indexados em diversas bases de dados referenciais e com texto completo



Das 8h às 17h
De 2ª a 6ª feira



facebook.com/bvsvet



twitter.com/bvsvet



bvsvet.blogspot.com



br.linkedin.com/in/bvsvet



www.bvs-vet.org.br

Biblioteca Virtual em Medicina Veterinária e Zootecnia - Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87
CEP 05508-270 - São Paulo (SP) - Brasil
Tel: +55 11 3091-7921 - e-mail: bvsvet@usp.br

Parceria de:

