

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Maria Fernanda Aranega Pimentel

**Genotipagem de amostras positivas para Raiva em Mato Grosso e Rondônia,
captura e identificação de morcego hematófago em Paranaíta-MT.**

CUIABÁ - MT

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Maria Fernanda Aranega Pimentel

Genotipagem de amostras positivas para raiva em Mato Grosso e Rondônia, captura e identificação de morcego hematófago em Paranaíta-MT

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Mato Grosso, para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de concentração: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Luciano Nakazato
Co-orientadora: Dra. Risia Lopes Negreiros

CUIABÁ-MT

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

P644g Pimentel, Maria Fernanda Aranega.
Genotipagem de amostras positivas para Raiva em Mato Grosso e Rondônia, captura e identificação de morcego hematófago em Paranaíta-MT. [recurso eletrônico] / Maria Fernanda Aranega Pimentel. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 118 f., il. color., pdf). -- 2023.

Orientador: Luciano Nakazato.

Coorientadora: Risia Lopes Negreiros.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Cuiabá, 2023.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. Raiva. 2. "Lyssavirus". 3. Genotipagem. 4. "Diphylla

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: GENOTIPAGEM DE AMOSTRAS POSITIVAS PARA RAIVA EM MATO GROSSO E RONDÔNIA, CAPTURA E IDENTIFICAÇÃO DE MORCEGO HEMATÓFAGO EM PARANAÍTA-MT

AUTORA: Doutoranda Maria Fernanda Aranega Pimentel

Tese defendida e aprovada em **17 de fevereiro de 2023**.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Doutor Luciano Nakazato (Presidente Banca / Orientador)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor Edson Moleta Colodel (Examinador Interno)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor Kledir Anderson Hofstaetter Spohr (Examinador Interno)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutora Fernanda Harumi Maruyama (Examinador Externo)

Instituição: Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso

Doutora Danny Franciele da Silva Dias Moraes (Examinador Externo)

Secretaria de Estado do Meio Ambiente de Mato Grosso

Doutor Fernando Henrique Furlan Gouvêa (Examinador Suplente)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Cuiabá, 17 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Harumi Maruyama, Usuário Externo**, em 10/04/2023, às 15:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **DANNY FRANCIELE DA SILVA DIAS MORAES, Usuário Externo**, em 10/04/2023, às 15:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **LUCIANO NAKAZATO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 10/04/2023, às 18:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **EDSON MOLETA COLODEL, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 10/04/2023, às 18:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **KLEDIR ANDERSON HOFSTAETTER SPOHR, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 11/04/2023, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5699836** e o código CRC **6DE5AEA3**.

AGRADECIMENTOS

Nada que eu escreva aqui conseguirá expressar o quanto realmente as pessoas aqui referenciadas me ajudaram nesta jornada.

Gostaria de agradecer primeiramente a pessoa que me acompanhou em todas as horas, as boas e as não tão boas assim, me apoiando sempre e me ajudando nas horas que mais precisei, agradeço de coração ao meu esposo Dorimércio Pessoa Pimentel, pela ajuda, companheirismo, apoio e paciência, muita paciência, nos momentos de estresse e nervosismo.

Agradeço aos meus pais Maria e Luiz (*in memoriam*) pelos exemplos, pela educação e ensinamentos que me guiaram até aqui.

Ao meu orientador Professor Dr. Luciano Nakazato por toda orientação, paciência, ensinamentos e sua calma característica na hora de resolver os problemas. À Professora Dra. Valéria Dutra pelas orientações, dicas e apoio durante estes quatro anos.

Aos professores do programa de Pós-graduação pelos ensinamentos. A toda a equipe da Coordenação do PPGVET pelo atendimento cordial.

Aos colegas de laboratório, agradeço o companheirismo e força nas horas difíceis, principalmente quando os experimentos não funcionavam.

Aos funcionários dos Laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular pelo auxílio.

Ao INDEA/MT pela dispensa nos dias de aulas e nas atividades relacionadas ao projeto.

À CAPES pelo financiamento do projeto.

E a todos que eu não mencionei aqui, e que direta ou indiretamente auxiliaram para que eu chegasse até este momento, o meu muito obrigada.

RESUMO

Genotipagem de amostras positivas para raiva em Mato Grosso e Rondônia, captura e identificação de morcego hematófago em Paranaíta-MT.

A raiva é uma doença fatal que acomete os mamíferos, inclusive os humanos. Apesar de não ter tratamento eficaz após o início dos sintomas, pode ser prevenida com vacinação. O período de incubação é variável, causando meningoencefalite não-suprativa. O agente etiológico é um vírus RNA do gênero *Lyssavirus*, o qual está distribuído pelo mundo todo, exceto na Antártida. O diagnóstico conclusivo é realizado com amostras do sistema nervoso central coletadas *post mortem*, sendo a prova diagnóstica padrão é a imunofluorescência direta. De 2005 a 2019, mais de 49 mil casos da doença foram registrados em animais no Brasil, sendo 3.418 registrados em animais de interesse pecuário no Estado Mato Grosso. A falta de informações sobre a genética, a diversidade e distribuição do vírus da raiva no Mato Grosso foi a motivação para a realização deste estudo. Um total de 117 amostras de tecido cerebral de bovinos, equinos, asininos, muares e ovinos de 29 municípios do estado de Mato Grosso e um município do estado de Rondônia, coletadas entre 2014 a 2021, foram positivas para a doença ao teste de imunofluorescência direta e/ou testes biológicos. O material genético foi extraído e a análise molecular foi realizado usando Transcriptase reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase para o gene N. Das 117 amostras analisadas, 50 foram amplificadas por Transcriptase reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase, purificadas e sequenciadas, apresentando 93,13%–100% de identidade com o vírus da raiva. Na análise filogenética, houve a formação de quatro clados, os quais foram geneticamente agrupados em regiões distintas dentro da linhagem *Desmodus rotundus*. Os resultados da geolocalização dos clados contribuirão para orientar os programas de monitoramento, controle e vigilância sanitária em MT. Foi capturado, identificado e registrado um exemplar da espécie *Diphylla ecaudata* que não tinha registro científico no estado de Mato Grosso.

Palavras chave: Raiva, *Lyssavirus*, genotipagem, Mato Grosso, RT-PCR, *Diphylla ecaudata*.

ABSTRACT

Genotyping of positive samples for rabies in Mato Grosso and Rondônia, capture and identification of vampire bats in Paranaíta-MT.

Rabies is a fatal disease that affects mammals, including humans. Despite not having effective treatment after the onset of symptoms, it can be prevented with vaccination. The incubation period is variable, causing non-suppurative meningoencephalitis. The etiological agent is an RNA virus of the genus *Lyssavirus*, which is distributed throughout the world, except in Antarctica. The conclusive diagnosis is made with samples of the central nervous system collected *post mortem*, and the standard diagnostic test is direct immunofluorescence. From 2005 to 2019, more than 49,000 cases of the disease were recorded in animals in Brazil, 3,418 of which were recorded in livestock in the state of Mato Grosso. The lack of information about the genetics, diversity and distribution of the rabies virus in Mato Grosso was the motivation for carrying out this study. A total of 117 brain tissue samples from cattle, horses, donkeys, mules and sheep from 29 municipalities in the state of Mato Grosso and one municipality in the state of Rondônia, collected between 2014 and 2021, were positive for the disease in the direct immunofluorescence test and/or biological tests. The genetic material was extracted and molecular analysis was performed using Reverse Transcriptase followed by Polymerase Chain Reaction for the N gene. Of the 117 samples analyzed, 50 were amplified by Reverse Transcriptase followed by Polymerase Chain Reaction, purified and sequenced, showing 93.13%–100% identity with the rabies virus. In the phylogenetic analysis, four clades were formed, which were genetically grouped in distinct regions within the *Desmodus rotundus* lineage. The results of clade geolocation will help to guide monitoring, control and health surveillance programs in MT. A specimen of the species *Diphylla ecaudata* that had no scientific record in the state of Mato Grosso was captured, identified and registered.

Keywords: Rabies, *Lyssavirus*, genotyping, Mato Grosso, RT-PCR, *Diphylla ecaudata*.

LISTA DE ABREVIATURAS

- % - Porcentagem
- °C – Graus Celsius
- μl – Microlitro
- IXa – Fator de coagulação 9a
- Xa – Fator de coagulação 10a
- A – Adenina
- aa – Aminoácidos
- ABLV – *Lyssavirus australis*
- AgV – Variante antigênica
- ANV – Anticorpos neutralizantes
- ARAV – *Lyssavirus aravan*
- ATP – Adenosina trifosfato
- B – Linfócitos B
- BBLV – *Lyssavirus bokeloh*
- BHE – Barreira hematoencefálica
- BLAST - Basic Local Alignment Search Tool
- C – Citosina
- CEUA - Comitê de ética no uso de animais
- CGRP1 – Receptores do vCGRP1
- DBatVir – Site de dados de vírus de morcegos
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- DNTP – Desoxirribonucleosídeo(s) trifosfato(s)
- DSPA – Ativador do plasminogênio salivar do *Desmodus rotundus*
- DTT - Ditioneitol
- DUVV – *Lyssavirus duvenhage*
- EBLV 1 – *Lyssavirus hamburg*
- EBLV 2 – *Lyssavirus helsinki*
- eIF3h – Fator de iniciação de tradução
- G – Glicoproteína
- GBLV – *Lyssavirus gannoruwa*
- HLA II – Antígeno da superfície de células

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses
IFD – Imunofluorescência direta
IKOV – *Lyssavirus ikoma*
INDEA – Instituto de Defesa Agropecuária do estado de Mato Grosso
IRKV – *Lyssavirus irkut*
Km - Quilômetros
KCl – Cloreto de potássio
KHUV – *Lyssavirus khujand*
L – RNA Polimerase RNA viral dependente / proteína grande
LASA – Laboratório de apoio à saúde animal
LBV – *Lyssavirus lagos*
LLEBV – *Lyssavirus lleida*
M – Proteína de matriz
m - Metro
MgCl₂ – Cloreto de magnésio
MgSO₄ – Sulfato de magnésio
MH – Morcego(s) hematófago(s)
min – Minutos
mL – Mililitro
M-MLV - Moloney Murine Leukemia Virus
mm - Milímetro
mM – Milimolar
MNH – Morcegos não hematófagos
MOKV – *Lyssavirus mokola*
mRNA – RNA mensageiro
MT – Estado de Mato Grosso
N - Nucleoproteína
nAChR – Receptor nicotínico da acetilcolina
NaCl – Cloreto de sódio
NCAM-CD56 – Molécula de adesão de células neurais
NCBI – National Center for Biotechnology Information
NK – Células natural killer
nt – Nucleotídeo

OPAS – Organização Panamericana de Saúde

P - Fosfoproteína

PB – Prova biológica

pb – Pares de bases

PCR – Reação em cadeia da polimerase

pH – Potencial hidrogeniônico

PI – Período de incubação

POP – Programa operacional padrão

p75NTR – Receptor de neurotrofina de baixa afinidade

qPCR - Reação em cadeia da polimerase em tempo real

RABV – *Lyssavirus rabies*

RE – Retículo endoplasmático

RT-PCR – Transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase

RNA – Ácido ribonucleico

RNP – Complexo ribonucleoproteína

SHIBV – *Lyssavirus shimoni*

SN – Sistema nervoso

SNC – Sistema nervoso central

SNP – Sistema nervoso periférico

T – Linfócitos T

TE – Tampão de eluição

TEB – Tampão tris-borato-EDTA

TWBLV – *Lyssavirus formosa*

U - Uracila

UFMT – Universidade Federal de Mato Grosso

UI – Unidades Internacionais

URC – Unidade de receptor celular

UV – Ultra violeta

vCGRP1 – Vasodilatador da saliva do *D. rotundus* semelhante à calcitonina humana

WCBV – *Lyssavirus caucasicus*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Raiva	14
2.1.1	Histórico	14
2.2	Agente etiológico	19
2.2.1	Distribuição do vírus	19
2.2.2	A raiva no Brasil	19
2.2.3	O vírus	20
2.2.3.1	<i>Lyssavirus rabies</i> – RABV.....	25
2.2.4	Reservatórios e ciclos epidemiológicos.....	26
2.2.5	Período de incubação e sinais clínicos	28
2.3	Patogenia	28
2.4	Imunologia	35
2.5	Diagnóstico	36
2.5.1	Técnicas diagnósticas	37
2.6	Diferencial	40
2.7	Tratamento e prevenção	40
2.7.1	Tratamento	40
2.7.2	Prevenção	41
2.8	Biossegurança	42
2.9	Morcegos	43
2.9.1	Distribuição dos morcegos.....	46
2.9.2	Morcegos hematófagos	47
2.9.2.1	Saliva - Substâncias anticoagulantes e vasodilatador.....	53
2.9.3	Relação virus x morcegos.....	53
2.10	Defesa sanitária	55
2.10.1	Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros	55
2.10.2	Capturas de morcegos	56
2.11	Biomassas	57
2.11.1	Bioma Amazônico	59
2.11.2	Bioma Cerrado	59
2.11.3	Bioma Pantanal	60
3	OBJETIVOS	60
3.1	Objetivo geral.....	60
3.2	Objetivos específicos	60
4	MATERIAIS E MÉTODOS	61
4.1	Amostras positivas	61
4.1.1	Extração do material genético	61
4.1.2	Transcriptase reversa em reação em cadeia da polimerase	62
4.1.3	Purificação e sequenciamento	62
4.1.4	Árvore filogenética	63
4.2	Captura de morcegos	63
4.2.1	Captura 1	63
4.2.2	Captura 2	65
4.2.3	Captura 3	66
4.2.4	Captura 4	66
5	RESULTADOS	66
6	APÊNDICES	67

6.1	APENDICE A – Artigo publicado "Genotyping of rabies positive samples isolated from animals in Mato Grosso and Rondônia – Brazil"	67
6.2	APENDICE B – “Três espécies de morcegos hematófagos capturados e identificados no Brasil, após mudanças antrópicas.”	79
7	REFERÊNCIAS	102
8	ANEXOS	115
8.1	ANEXO A – SISBIO	115
8.2	ANEXO B – SEMA.....	116
8.3	ANEXO C – CEUA	117
8.4	ANEXO D – IDARON.....	118

1 INTRODUÇÃO

A raiva é considerada uma das zoonoses mais importantes no mundo, por ser letal para a maioria dos que são infectados. Ocorre em quase todos os continentes, com exceção da Antártida (WHO, 2021), e causa por ano ao redor de 59.000 mortes humanas (WOAH, 2022), principalmente em países economicamente desfavorecidos como a África e Ásia (BRASIL, 2008). Apesar da imunização ser eficiente para controlar a doença, esta enfermidade é negligenciada (WHO, 2021).

Estudos estimam que os prejuízos econômicos devido a mortes humanas cheguem até 2,2 milhões de dólares/morte, sem acrescentar os tratamentos, testes diagnósticos e vacinações (FOOKS, et al., 2014). Para a transmissão desta enfermidade aos seres humanos, geralmente o cão está envolvido, porém a transmissão pelo morcego hematófago (MH) *Desmodus rotundus* foi descrita por Gonçalves et al. (2002).

No Brasil, os casos de raiva humana transmitidos por animais de estimação diminuíram, porém as transmissões por morcegos hematófagos tem aumentado. Dos quatro casos de raiva registrados em 2022, duas crianças foram a óbito em Minas Gerais, sendo transmitido pelo MH, e outras duas por transmissor desconhecido, duas variantes foram identificadas como a do *Desmodus rotundus* (MS, 2022). Esta espécie de morcego existe somente nas Américas, e está distribuído do México ao norte da Argentina, Chile e Uruguai (GREENHALL, et al., 1983; PANAFITOSA/SPV-OPS/OMS, 2022).

Todos os mamíferos de interesse pecuário podem ser acometidos, principalmente os bovinos, causando muitos prejuízos (BREDET, et al., 1998; RADOSTITS, et al., 2010). Além das perdas econômicas diretas há também as relacionadas a espoliação por MH como: a má qualidade do couro, perda de peso e a baixa na produção de leite (REIS, et al., 2003). Estes custos giram em torno de 15 milhões de dólares/ano (MELLO, et al., 2019; OLIVEIRA, et al., 2013).

Para os animais de interesse pecuário, a raiva é transmitida por morcego hematófago. A subfamília *Desmodontinae*, é a única subfamília com espécie de morcego que se alimenta de sangue, possuindo 3 gêneros, cada gênero com apenas uma espécie. Duas espécies são especializadas em se alimentar de sangue de aves, a *Diaemus youngi* e a *Diphylla ecaudata*. A espécie *Desmodus rotundus* se alimenta em mamíferos e aves (JOHNSON, et al., 2014; REIS, et al., 2017). E a espécie

Diphyllo ecaudata não tem registro na literatura científica no estado de Mato Grosso (REIS, et al., 2017).

Devido aos poucos dados da raiva em Mato Grosso e Rondônia, e a ocorrência da enfermidade nos biomas Pantanal, Amazônia e Cerrado, o objetivo deste estudo foi caracterizar os vírus de amostras positivas dos estados, através da genotipagem das mesmas. Além de registrar cientificamente a captura de uma espécie hematófaga nunca descrita no estado de Mato Grosso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Raiva

2.1.1 Histórico

Desde a antiguidade até o século XVII a Teoria Miasmática era aceita como a origem das enfermidades, acreditava-se que as doenças eram causadas pelo ar, solo e águas contaminadas, por influência do clima e dos planetas (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Mal milenar, há descrições desta doença desde o século XXIII a.C. no código de Eshnunna (BABBONI & MODOLO, 2011; FLORES-CRESPO, 1998; SINGH, et al., 2017). Duzentos anos depois foi citada no Código de Hamurabi na antiga Babilônia, e com relatos no Egito antigo e Índia, principalmente em comunidades ao longo dos rios Nilo, Eufrates e Indo (FLORES-CRESPO, 1998). Os egípcios acreditavam que a doença era um demônio que se apossava das pessoas, e evocavam o San Taraba para expulsá-lo (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Na cultura grega foi descrita por Homero que a citou em *Ilíada*. Demócrito fez a primeira descrição da enfermidade, Hipócrates descreveu sua sintomatologia e Aristóteles descreveu a raiva em cães e sua transmissibilidade para outros animais, exceto humanos (BABBONI & MODOLO, 2011; FLORES-CRESPO, 1998; MOREIRA, 1897; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994; STEELE & FERNANDEZ, 1991). Na Escola de Alexandria foram feitas observações muito precisas da enfermidade, e a classificaram como a mais cruel das doenças (BABBONI & MODOLO, 2011; MOREIRA, 1897).

Na China, de 472 – 221 a.C., era utilizada a cauterização das feridas para conter a doença. Os romanos Ovídio e Plínio diziam que a raiva era transmitida por vermes que se alojavam na língua dos cães doentes (BABBONI & MODOLO, 2011; FLORES-CRESPO, 1998; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). No livro de Celsus, já no princípio da Era Cristã (Séc. I) ele descreveu os sinais clínicos da enfermidade (FLORES-CRESPO, 1998; STEELE & FERNANDEZ, 1991) e recomendou vários tratamentos como o uso de ventosas, cauterização, substâncias cáusticas, banhos com transpiração, vinho e sangria (BABBONI & MODOLO, 2011; MOREIRA, 1897; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994; STEELE & FERNANDEZ, 1991). Neste mesmo século a palavra “vírus” foi utilizada para designar que a raiva era um veneno (em latim) (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994), e, nesta mesma época, na Índia, foi escrito o primeiro texto médico sobre a raiva, o Sucrutasamitá (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

O primeiro surto de raiva conhecido foi na França em 1271. Em 1500 ocorreu um surto na Espanha (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994; STEELE & FERNANDEZ, 1991), em Paris em 1614 (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994), em Londres ocorreu uma epidemia que durou de 1752 a 1762 (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994; STEELE & FERNANDEZ, 1991), e em 1779, na Inglaterra, os pobres foram proibidos de ter cães (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Neste mesmo século a raiva chega às Américas, segundo Flores-Crespo (1998) a enfermidade chegou com os primeiros conquistadores, o relato mais antigo foi no século XVIII, em 1709 no México, anos depois nos Estados Unidos em 1753 (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). Na América do Sul o primeiro relato foi em 1803 no Peru, e em 1806 na Argentina (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994; STEELE & FERNANDEZ, 1991). Outros autores datam a chegada da raiva às Américas somente no século XIX (BABBONI & MODOLO, 2011; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Vos e colaboradores (2011) encontraram indícios da enfermidade em manuscritos Maias, e relatos de historiadores em livros conhecidos como Codex (o Madrid Codex, o Paris Codex, o Dresden Codex e o Grolier Codex). Segundo Teixeira

& Papavero (2012), no século XVI já havia relatos de escritores de vários países europeus sobre a presença dos morcegos hematófagos no Novo Mundo e sua mordida venenosa, desde 1510, quando Pietro Martire de Anghiera relatou ataques de morcegos. Em 1514 Martin Fernando de Enciso relatou que fora agredido, mas não ficou doente, indicando que havia uma ligação entre a mordida dos morcegos hematófagos e uma doença. Em uma passagem relata que uns morriam outros não devido as mordidas dos morcegos. Em 1525 – Relatos de religiosos dominicanos, onde um “morcego doutor” salvou a vida de um dos seus, que necessitava de uma sangria. Seus colegas não encontravam uma veia para realizar o procedimento e o deixaram para morrer, porém, a noite, um morcego o atacou, e no outro dia, quando estavam se preparando para enterrá-lo, foram buscar o corpo, e encontraram o religioso vivo e bem.

Muitos outros relatos de vários religiosos, militares, escritores e aventureiros até meados do século XIX, que escreveram em seus diários as características dos morcegos, os animais e os locais do corpo que atacavam, onde se abrigavam, os sintomas dos humanos agredidos, tratamentos utilizados na época, entre outras descrições como métodos de controle utilizados e as mortes de muitos animais, como aves, cabras, ovelhas, bovinos, suínos e equídeos (TEIXEIRA & PAPAVERO, 2012).

Os antigos sempre davam uma origem divina às causas desconhecidas das doenças, mas no Século XIX, com o descobrimento da Microbiologia, apareceram novas teorias da origem das enfermidades. Em 1804, Zinke afirmava que a raiva podia ser transmitida de cães para coelhos, infectando feridas com saliva. Na França, em 1810, foi decretada pena de morte para quem proibisse alguém de estrangular, asfixiar, dessangrar ou matar quem estivesse acometido pela raiva (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). Em 1821 Marochetti nomeou as vesículas sublinguais de “Lysses”, um dos sinais em animais contaminados (BABBONI & MODOLO, 2011; MOREIRA, 1897).

No ano de 1880 Louis Pasteur inicia seus estudos sobre a raiva (BERCHE, 2012). Em 1881, Pasteur, e seus colaboradores isolaram um “micróbio” semelhante a um “8” com diâmetro entre meio e 1 micron, envolvido por uma capsula onde parecia ter-se desenvolvido o organismo microscópico (BABBONI & MODOLO, 2011; MOREIRA, 1897). Neste mesmo ano os mesmos cientistas demonstraram a virulência do sistema nervoso dos animais doentes, e inocularam o material infectado via intracranial para reproduzir a enfermidade (FLORES-CRESPO, 1998).

Em 1884 Pasteur declara que o vírus rábico está disseminado nas glândulas salivares, no SNC e no SNP de animais doentes. No ano de 1885 Pasteur criou um método para atenuar o vírus, e testa sua “vacina” em cães com sucesso (BABBONI & MODOLO, 2011; BERCHE, 2012; MOREIRA, 1897). Neste mesmo ano, em 06 de julho, realiza a primeira vacinação em humanos num garoto de 9 anos, Joseph Meister, que fora atacado por cão raivoso, o garoto sobrevive ao tratamento de Pasteur (BABBONI & MODOLO, 2011; FLORES-CRESPO, 1998; MOREIRA, 1897; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). O mesmo aconteceu meses depois com o pastor, Jean-Baptiste Jupille em outubro de 1885, que também fora mordido por cão raivoso e tratado com a vacina (BERCHE, 2012).

De 1885 a 1886 Pasteur tratou 2490 pessoas, entre elas, 1726 Franceses e Argelinos, e destes apenas 10 morreram, os demais pacientes eram de outras nacionalidades incluindo russos, americanos e de outros países (BABBONI & MODOLO, 2011; BERCHE, 2012; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). Roux & Calmette, de 1887 a 1891 melhoraram a vacina de Pasteur com o uso da glicerina para conservá-la e enviá-la a lugares distantes (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). Em 1888 foi criado o Instituto Pasteur em Paris (BABBONI & MODOLO, 2011; BERCHE, 2012). Vacinas com vírus inativado foram descritas por Fermi & Semple de 1908 a 1919 (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

No Brasil, em 1908, inicia em Santa Catarina a maior epizootia do país, onde a raiva levou a óbito mais de 4000 bovinos e 1000 equinos, observada de perto por Parreiras Horta. Nesta mesma época, em São Paulo, Adolfo Lutz observa a moléstia em equinos, e informa que estes sofriam muito com ataques de morcegos (BRASIL, 1988). Em 1911, em Santa Catarina, Carini (RUPPRECHT, et al., 2002; BRASIL, 1988) e Parreiras Horta (BRASIL, 1988) sugerem que o vírus da raiva tinha nos morcegos um dos seus reservatórios no Novo Mundo (RUPPRECHT, et al., 2002; BRASIL, 1988).

A vacina de Pasteur foi utilizada até 1921 quando foi adaptada para cães domésticos no Japão (BABBONI & MODOLO, 2011). Seller e Fellow simplificaram as técnicas de diagnóstico da enfermidade em 1927. Houve uma adaptação do vírus à embrião de aves para obter cepas mais atenuadas para vacinar animais e humanos em 1939 (FLORES-CRESPO, 1998). Koprowski & Cox iniciaram os estudos, em 1948, para criação da vacina de vírus fixo desenvolvida em embrião de aves (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Em 1950 no Chile, foi desenvolvida vacina canina com vírus inativado de tecido nervoso (BABBONI & MODOLO, 2011). Neste mesmo ano foi desenvolvida por Powell e colaboradores uma vacina, para uso em humanos, de vírus inativado em embrião de pato. Em 1954 houve o desenvolvimento de vacina feita com cérebro de rato lactente por Fuenzalida & Palácios (RUPPRECHT, et al., 2002; SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Em 1958, a Imunofluorescência direta (IFD), idealizada por Goldwasser & Kissling foi introduzida, e ainda hoje é o padrão ouro para o diagnóstico da raiva (HALON & NADIN-DAVIS, 2013). A vacina tipo Fermi ou Semple causou a morte de 18 pessoas por encefalite rábica no Ceará (Brasil) quando houve uma troca nas amostras do vírus no momento da fabricação das vacinas em 1960, antes da existência do Programa de raiva (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994).

Nesta década a morfologia foi definida por microscopia eletrônica e o ácido ribonucleico (RNA) foi detectado como o material genético do vírus (RUPPRECHT, et al., 2002). O imunologista e virologista polonês Hilary Koprowski, em 1966, publicou a técnica da inoculação do vírus em camundongo ou prova biológica, que ainda é utilizada nos dias de hoje (HALON & NADIN-DAVIS, 2013). Já em 1968 novos diagnósticos foram descritos, como o método de coloração direta e a histopatologia por Sellers (FLORES-CRESPO, 1998).

A partir de 1970 vacinas para humanos pós exposição foram desenvolvidas por Wiktor com o cultivo celular de células diploides humanas (SCHNEIDER & SANTOS-BURGOA, 1994). A produção padrão de imunoglobulina humana contra a raiva, a vacinação oral e procedimentos de coloração com peroxidase em histologia (imunohistoquímica) foram desenvolvidos no início da década de 70 e a técnica de anticorpos neutralizantes é testada com sucesso em 1978. Vacina intradérmicas e recombinantes foram produzidas e testadas nos anos 80, mesma década em que foi criada a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) por Kary Mullis. O diagnóstico pela PCR foi intensificado e vacinas de ácido desoxirribonucleico (DNA) foram desenvolvidas na década de 1990 (RUPPRECHT, et al., 2002).

Nos anos 2000 o avanço acelerado no uso de tecnologias trouxe inúmeros testes diagnósticos e técnicas moleculares sofisticadas cada vez mais sensíveis e específicas para a doença, como por exemplo a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) em 2003, pan-lyssavirus TaqMan transcriptase reversa seguida de

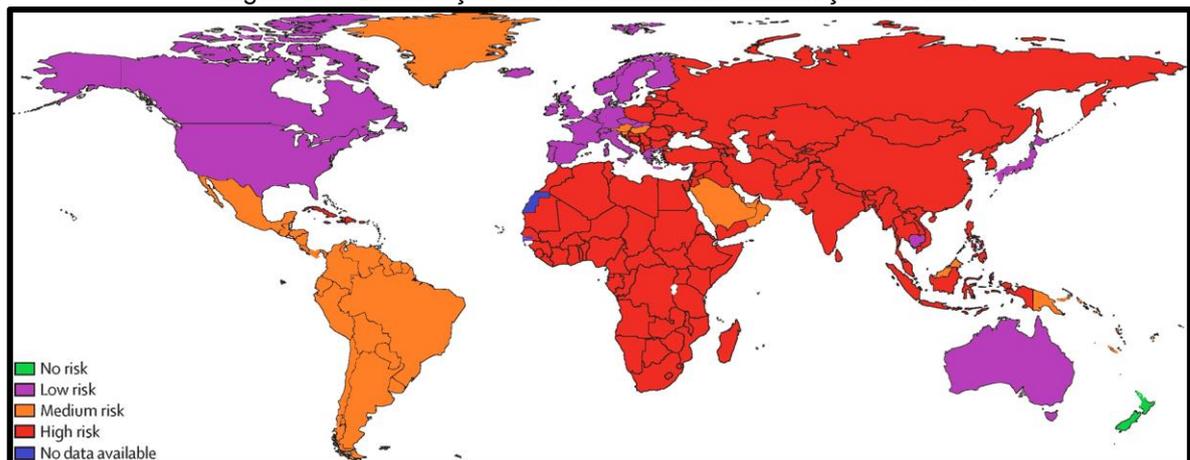
reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), e recentemente a RT-qPCR duplex (MINOZZO, et al., 2022).

2.2 Agente etiológico

2.2.1 Distribuição do vírus

Esse vírus está distribuído praticamente em todo planeta (Figura 01) exceto na Antártica, com mais de 59.000 (WOAH, 2022) mortes por ano, sendo a maioria na Ásia e África, onde as condições sociais precárias estão associadas ao maior risco para contrair a doença (FOOKS, et al., 2014).

Figura 01 - Distribuição do vírus no mundo e avaliação de risco.



As cores representam os riscos: Verde - Sem risco; Roxo - Baixo risco; Laranja - Médio risco; Vermelho - Alto risco; Azul - Sem dados disponíveis. Fonte: Adaptado de Fooks, et al., 2014.

2.2.2 A raiva no Brasil

Dados do Ministério da Saúde (MS) mostram o declínio dos casos de raiva canina quando se trata das variantes 1 e 2. Os episódios que ainda ocorrem são de variantes relacionadas a animais silvestres. De 2015 a 2022 somente as variantes 3 e a dos canídeos silvestres foram identificadas no país (BRASIL-MS,2022).

Os números da raiva animal no país saiu de 85 casos em gatos e 635 casos em cães em 2002, para quatro casos em gatos e dois casos em cães em 2022. Onde nestes seis últimos casos a variante 3 foi identificada em três episódios de raiva felina, e as demais ainda estão em análise (BRASIL-MS, 2022).

No país, a raiva em animais de interesse pecuário este ano já tem o registro de 63 casos em bovinos, 15 em equídeos e 5 em outras espécies. Em Mato Grosso houve 17 casos em bovinos e 7 em equinos (BRASIL-MS, 2022).

O histórico da raiva humana transmitida por morcegos de 2002 a 2022 teve muitos altos e baixos, com destaque negativo para os anos de 2004, 2005 e 2018, com 22, 42 e 11 episódios respectivamente. No ano de 2022 houve cinco casos de raiva humana confirmados, quatro transmitido por morcegos (BRASIL-MS, 2022).

2.2.3 O vírus

O vírus RNA, de fita simples, sentido negativo (-ssRNA) (Figura 02), neurotrópico, que provoca a mais letal das doenças infecciosas, pertence ao Domínio *Riboviria*, ao Reino *Orthornavirae*, ao Filo *Negarnaviricota*, ao Subfilo *Haploviricotina*, à Classe *Monjiviricetes*, à Ordem *Mononegavirales*, à Família *Rhabdoviridae*, à Subfamília *Alpharhabdovirinae* e ao Gênero *Lyssavirus* (ICTV, 2022). Este gênero está composto por 17 espécies, divididas em 3 filogrupos I, II e III, que recentemente foram renomeados pelo International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (Tabela 1).

Figura 02 - Classificação de Baltimore do vírus da raiva.



Classificação do vírus da raiva segundo Baltimore, RNA de fita simples de sentido negativo. Fonte: Adaptado de https://stringfixer.com/pt/Baltimore_classification

Tabela 1 - Gênero *Lyssavirus*.

Filo-grupo	Espécies nomes até Fev/2022*	Nº acesso GenBank	Espécies nomes novos Mar/2022**	Abreviatura
I	<i>Rabies lyssavirus</i>	NC_001542.1 / M13215	<i>Lyssavirus rabies</i>	RABV
	<i>Duvenhage virus</i>	NC_020810.1 / EU293119	<i>Lyssavirus duvenhage</i>	DUVV
	<i>European bat lyssavirus 1</i>	NC_009527.1 / EF157976	<i>Lyssavirus hamburg</i>	EBLV1
	<i>European bat lyssavirus 2</i>	NC_009528.2 / EF157977	<i>Lyssavirus helsinki</i>	EBLV2
	<i>Bokeloh bat lyssavirus</i>	NC_025251.1 / JF311903	<i>Lyssavirus bokeloh</i>	BBLV
	<i>Irkut lyssavirus</i> ^a	NC_020809.1 / EF614260	<i>Lyssavirus irkut</i>	IRKV
	<i>Australian bat lyssavirus</i>	NC_003243.1 / AF081020	<i>Lyssavirus australis</i>	ABLV
	<i>Gannoruwa bat lyssavirus</i>	NC_031988.1 / KU244266	<i>Lyssavirus gannoruwa</i>	GBLV
	<i>Aravan lyssavirus</i> ^a	NC_020808.1 / EF614259	<i>Lyssavirus aravan</i>	ARAV
	<i>Khujand lyssavirus</i> ^a	NC_025385.1 / EF614261	<i>Lyssavirus khujand</i>	KHUV
	<i>Taiwan bat lyssavirus</i>	NC_055474.1 / MF472710	<i>Lyssavirus formosa</i>	TWBLV
II	<i>Lagos bat lyssavirus</i>	NC_020807.1 / EU293108	<i>Lyssavirus lagos</i>	LBV
	<i>Mokola lyssavirus</i> ^b	NC_006429.1 / Y09762	<i>Lyssavirus mokola</i>	MOKV
	<i>Shimoni bat lyssavirus</i> ^a	NC_025365.1 / GU170201	<i>Lyssavirus shimoni</i>	SHIBV
III	<i>Ikoma lyssavirus</i> ^{a,b}	NC_018629.1 / JX193798	<i>Lyssavirus ikoma</i>	I KOV
	<i>Lleida bat lyssavirus</i>	NC_031955.1 / KY006983	<i>Lyssavirus lleida</i>	LLEBV
	<i>West Caucasian bat lyssavirus</i> ^a	NC_025377.1 / EF614258	<i>Lyssavirus caucasicus</i>	WCBV

a-Apenas um único isolado descrito. b-Não está associado com morcegos.

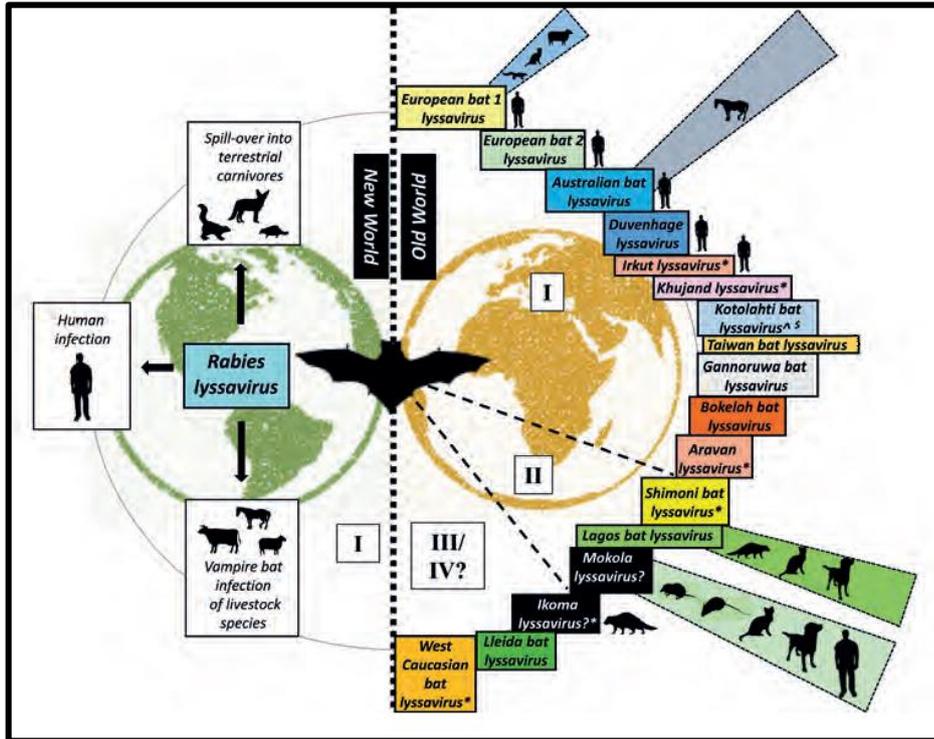
Fonte: WHO 2018*, ICTV 2022**.

O filogrupo I possui 11 integrantes: RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, IRKV, ABLV, BBLV, KHUV, TWBLV, GBLV, e ARAV. O filogrupo II possui 3 integrantes: MOKH, SHIBV, LBV. E o filogrupo III possui 3 integrantes: WCBV, LLEBV e IKOV (ICTV, 2022; WHO, 2018).

Além destas 17 espécies, há ainda cinco outras aguardando a classificação pelo ICTV, o *Matlo Bat Lyssavirus*, o *Matlapitsi Bat Lyssavirus*, o *Lyssavirus Ozernoe* (NC_025408.1), o *Kotolahti Bat Lyssavirus* e o *European Bat Lyssavirus* (NCBI, 2022). Este gênero possui muitas características que também são expressas em outros vírus da Família *Rhabdoviridae*, como o formato de “projétil”, proteínas estruturais, organização do genoma RNA viral, e o núcleo de nucleocapsídeo helicoidal (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Ao contrário dos outros rbdovírus, os *Lyssavirus* não são transmitidos por artrópodes, e possuem formas específicas para transmissão direta. Segundo estudos filogenéticos, os *Lyssavirus* tem sua origem em um vírus antecessor de morcego. Os *Lyssavirus* estão dispersos pelo mundo todo, assim como os morcegos, porém nem todos os *Lyssavirus* tem como reservatório os mamíferos alados, os vírus MOKV e o IKOV não tem seus reservatórios identificados ainda (FOOKS, et al., 2014) (Figura 03).

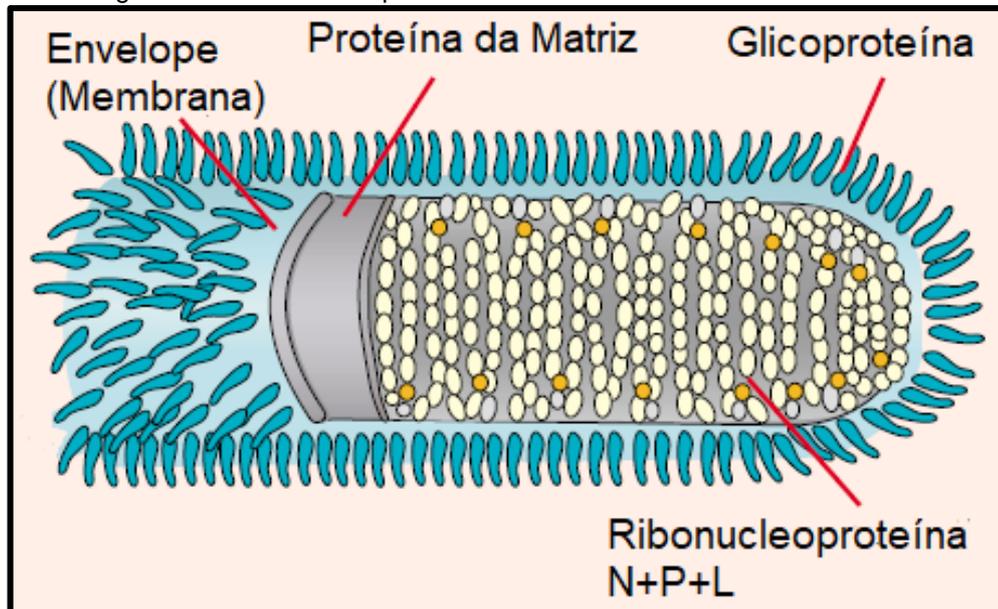
Figura 03 - Distribuição mundial das espécies do Gênero *Lyssavirus* classificados nos 3 filogrupos.



*Isolamento único; ^Sem isolado disponível; ?Não associado a morcegos; \$Não classificado pelo ICTV dentro do Gênero *Lyssavirus*. Fonte: WHO, 2018.

O material genético deste vírus possui 11932 nucleotídeos (NC_001542.1) e está composto por 5 genes que codificam as proteínas de sua estrutura (Figura 04) (NCBI, 2022). Estes genes estão organizados de maneira conservada (Figura 05) (FOOKS, et al., 2014; SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013).

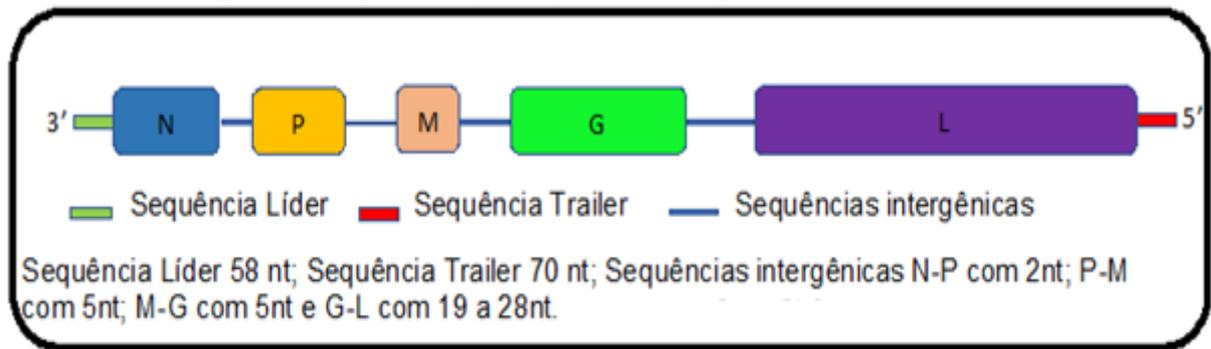
Figura 04 - Desenho esquemático do vírus da raiva e suas estruturas.



Fonte: Adaptado de Rupprecht, Hanlon & Hemachudha, 2002.

A proteína N chamada nucleoproteína (NP_056793.1), é composta por 1352 nucleotídeos (nt), está localizada no genoma entre os nt 71 e 1423 (NCBI, 2022), é formada por 450 aminoácidos (aa) é a mais conservada dentre as cinco proteínas (BATISTA, et al., 2007; NCBI, 2022; WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Figura 05 - Representação esquemática do genoma do vírus da Raiva



Fonte: Adaptado de Wunner, 2014.

Ela participa do sistema imunológico induzindo anticorpos neutralizantes (ANV) do vírus, e possui regiões com epítomos para reconhecimento de linfócitos “T” (BATISTA, et al., 2007; WUNNER & CONZELMANN, 2013). Participa da formação dos capsídeos e da encapsidação das novas moléculas de RNA genômico sintetizados (na transcrição). Regula a transcrição do RNA viral e protege o mesmo contra as ribonucleases, e participa no transporte axoplasmático intraneuronal (BATISTA, et al., 2007).

De todas, é a segunda proteína mais analisada no que se refere às suas funções, estruturas antigênicas e imunogênicas. Na posição serina 389 é fosforilada, o que produz uma estabilidade na interação entre N e P no complexo ribonucleoproteína do vírus rábico. Nesta proteína há vários epítomos lineares que servem de sítios de ligação para anticorpos monoclonais (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Além de ser ativador de linfócitos eficaz, produz resposta rápida de anticorpos neutralizantes, induz ativação precoce de células T, mobiliza células CD4+Vb8 para desencadear produção de ANV e tem capacidade de ligação aos antígenos HLA II que são expressos nas superfícies das células, assumindo assim o papel de superantígeno (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Proteína P chamada fosfoproteína (NP_056794.1), composta por 893 nt e localizada entre os nucleotídeos 1514 e 2407 (NCBI, 2022), está formada por 297 aa,

e é a menos conservada das 5 proteínas (BATISTA, et al., 2007; WUNNER & CONZELMANN, 2013). Ela se associa às proteínas N e L na formação do complexo ribonucleoproteína e está envolvida no transporte axonal do vírus (BATISTA, et al., 2007), com domínios de ligação com a dineína LC8, envolvida no transporte, em um complexo abrangendo microtúbulos. É uma proteína que possui várias funções, além de interagir com N para formar o complexo N-P, se liga à proteína L estabilizando-a e coordena o processo de encapsidação de N no RNA viral (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Esta proteína é um cofator não catalítico na transcrição e replicação do genoma (WUNNER & CONZELMANN, 2013). Inibe a ativação do fator regulador de interferon, fator que é chave para resposta celular, sendo imprescindível na prevenção da resposta de interferon nas células infectadas pelo vírus rábico (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Proteína M chamada proteína da matriz (NP_056795.1), composta por 608 nt e está localizada entre os nt 2496 e 3104 (NCBI). É formada por 202 aa (BATISTA, et al., 2007; NCBI, 2022; WUNNER & CONZELMANN, 2013), é a menor das proteínas do vírus da raiva (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Esta proteína está presente nos espaços entre o envelope e o ribonucleocapsídeo, com papel ativo na montagem das partículas virais e no brotamento dos novos vírions (BATISTA, et al., 2007). M se associa com a glicoproteína (G) no complexo de Golgi da célula através de dímeros, esta proteína forma a estrutura do vírus (formato de projétil) e se liga ao complexo RNP no núcleo do vírus rábico e ao mesmo tempo promove a ligação entre o núcleo do vírus e a membrana da célula hospedeira (WUNNER & CONZELMANN, 2013). Esta proteína tem envolvimento na regulação da transcrição e replicação, é um importante fator na tradução do RNA mensageiro (mRNA). Altas concentrações desta proteína interfere na transcrição e tradução das proteínas virais (SCHNELL, et al., 2010).

Proteína G chamada Glicoproteína (NP_056796.1) composta por 1574 nt e localizada entre os nt 3318 e 4892 (NCBI). Codifica 524 aa (BATISTA, et al., 2007; NCBI, 2022; WUNNER & CONZELMANN, 2013), é a responsável pela adsorção do vírus à célula hospedeira (BATISTA, et al., 2007; SCHNELL, et al., 2010) e a fusão do envelope viral à membrana plasmática. Assim como a proteína M, participa do processo de brotamento de novos vírions. Estimula a resposta imune celular e induz

anticorpos neutralizantes através de ectodomínios. Está relacionada com a patogenicidade da cepa, pois quanto maior a expressão desta proteína, maior o número de apoptose celular e maior a inibição do transporte axonal, resultando em menor patogenicidade (BATISTA, et al., 2007). Participa da disseminação e propagação do vírus (SCHNELL, et al., 2010).

A proteína G é uma proteína de membrana que se estende para além da superfície viral, conhecida como transmembrana. Ela é composta por trímeros que atravessam a membrana plasmática e surgem na superfície externa do vírus, essas “pontas” de G possuem os ectodomínios que são responsáveis pela ligação com os receptores das células hospedeiras. É responsável também por baixar o pH da membrana do vírus para induzir a fusão do envelope viral com a membrana da célula. É um importante indutor da resposta humoral do hospedeiro quando infectado pelo vírus rábico, é o alvo dos anticorpos neutralizantes do vírus assim como alvo das células T e das células citotóxicas (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Proteína L chamada proteína grande e também RNA polimerase RNA viral-dependente (NP_056797.1), composta por 6428 nt e está localizada entre os nucleotídeos 5418 e 11846 (NCBI). Codificando 2142 aa, é a proteína que forma a RNA polimerase, em conjunto com as proteínas P e N transcrevem o genoma viral, porém necessita interagir com a proteína P para ativar-se. É a maior das proteínas do vírus da raiva, ocupando mais da metade do genoma. É a proteína catalítica do complexo polimerase, responsável por quase todas as reações enzimáticas da transcrição e replicação do vírus (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

A proteína L tem função enzimática desde a liberação do RNP no citoplasma da célula hospedeira na iniciação e alongamento dos RNA e mRNA, no capeamento e na metilação (5'), bem como na poliadenilação (3') (BATISTA, et al., 2007; WUNNER & CONZELMANN, 2013) e também como quinase (BATISTA, et al., 2007) áreas super conservadas de “L” foram identificadas como locais de ligação e utilização de adenosinas trifosfatos (ATPs), que codificam três atividades essenciais da proteína RNA polimerase RNA viral dependente (L): transcrição, poliadenilação e fosforilação (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

2.2.3.1 *Lyssavirus rabies* – RABV

Esse vírus é o protótipo do gênero *Lyssavirus*, o RABV possui 12 variantes na Américas, que foram assim classificadas através de um painel de oito anticorpos monoclonais produzidos pelo Centers of Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA-Organização Panamericana de Saúde (FREITAS, 2018) (Quadro 01).

Quadro 01 - Variantes Antigênicas do Vírus da Raiva (RABV), reservatórios e origem.

Variante Antigênica (AgV)	Reservatório	País
AgV 1	<i>Canis familiaris</i>	Brasil
AgV 2	<i>Canis familiaris</i>	Brasil
AgV 3	<i>Desmodus rotundus</i>	Brasil
AgV 4	<i>Tadarida brasiliensis</i>	Brasil
AgV 5	<i>Desmodus rotundus</i>	Venezuela
AgV 6	<i>Lasiurus cinereus</i>	Brasil
AgV 7	Raposa	EUA
AgV 8	Gambá	EUA
AgV 9	<i>Tadarida brasiliensis</i>	México
AgV 10	Gambá	EUA
AgV 11	<i>Desmodus rotundus</i>	México
AgVNC	<i>Callithrix jacchus</i>	Brasil

Fonte: Adaptado de Freitas, 2018 e Freitas, 2019.

No Brasil circulam sete destas variantes: AgV1 e AgV2 – *Canis familiaris* (cães); AgV3 – *Desmodus rotundus* (morcego hematófago); AgV4 – *Tadarida brasiliensis* (morcego insetívoro) e AgV6 - *Lasiurus cinereus* (morcego insetívoro), e ainda outras duas variantes que foram identificadas em reservatórios silvestres: no *Cerdocyon thous* – cachorro do mato (semelhante a AgV2 variante de *Canis familiaris*) e no *Callithrix jacchus* – saguis (AgVCN) (BRASIL, 2016).

2.2.4 Reservatórios e ciclos epidemiológicos

Os mamíferos acometidos podem transmitir o vírus da raiva. Os reservatórios dependem do ciclo epidemiológico que podem ser divididos em: urbano, rural, silvestre e o aéreo (Figura 06) (BATISTA, et al., 2007).

No ciclo urbano cães e gatos estão envolvidos como reservatórios, podendo disseminar a doença para os ciclos silvestre e rural. A raiva humana, na maioria dos

casos, está relacionada a este ciclo, mas infecções humanas transmitidas por animais que fazem parte dos outros ciclos têm aumentado (BARBOSA, et al., 2008; BATISTA, et al., 2007; SINGH, et al., 2017).

Figura 06 - Ciclos epidemiológicos de transmissão da raiva no Brasil.



Fonte: PANAFTOSA/SPV-OPS/OMS, 2022.

O ciclo rural geralmente é terminal pois dissemina apenas acidentalmente para outros ciclos (BRASIL, 2009). Neste ciclo os animais envolvidos são os de interesse pecuário, os bovídeos, equídeos, suínos, caprinos e ovinos.

O ciclo silvestre é mantido por alguns animais como raposas, coiotes, canídeos selvagens, texugos, jaritacas, guaxinins, gambás, saguis, morcegos hematófagos e várias espécies de morcegos não hematófagos. Estes animais podem transmitir a doença para o ciclo urbano e para os humanos, devido a vários fatores: com o desmatamento, garimpos, em que os animais são desalojados de seus habitats naturais, além da proximidade das pessoas no ambiente rural e a utilização de animais silvestres como pets (BARBOSA, et al., 2008; BATISTA, et al., 2007; SINGH, et al., 2017).

Já o ciclo aéreo, que é mantido pelos morcegos, é o que dissemina o vírus para todos os outros ciclos epidemiológicos da raiva e para os seres humanos (BARBOSA, et al., 2008; BATISTA, et al., 2007; SINGH, et al., 2017).

Também devido à proximidade dos seres humanos às áreas rurais para exploração de madeira e garimpos, utilizando abrigos precários no meio da floresta e

ao grande número de abrigos artificiais construídos pelos humanos que os morcegos utilizam (BRASIL, 2009).

2.2.5 Período de incubação e sinais clínicos

O período de incubação (PI) pode variar de dias a até anos, pois depende de vários fatores, como: local, extensão e profundidade da agressão (mordida / arranhão / lambedura), quantidade de vírus inoculado, distância entre o local da inoculação do vírus e o SNC, e também da cepa viral (INSTITUTO PASTEUR – SP, KATZ, et al., 2016).

Além disto, o PI pode variar de acordo com a espécie acometida, sendo em cães e felinos de 15 a 60 dias, nos animais de produção de 30 a 90 dias (INSTITUTO PASTEUR – SP) e, em humanos, de 20 a 90 dias, sendo em casos raros até mais de um ano (JACKSON, 2013).

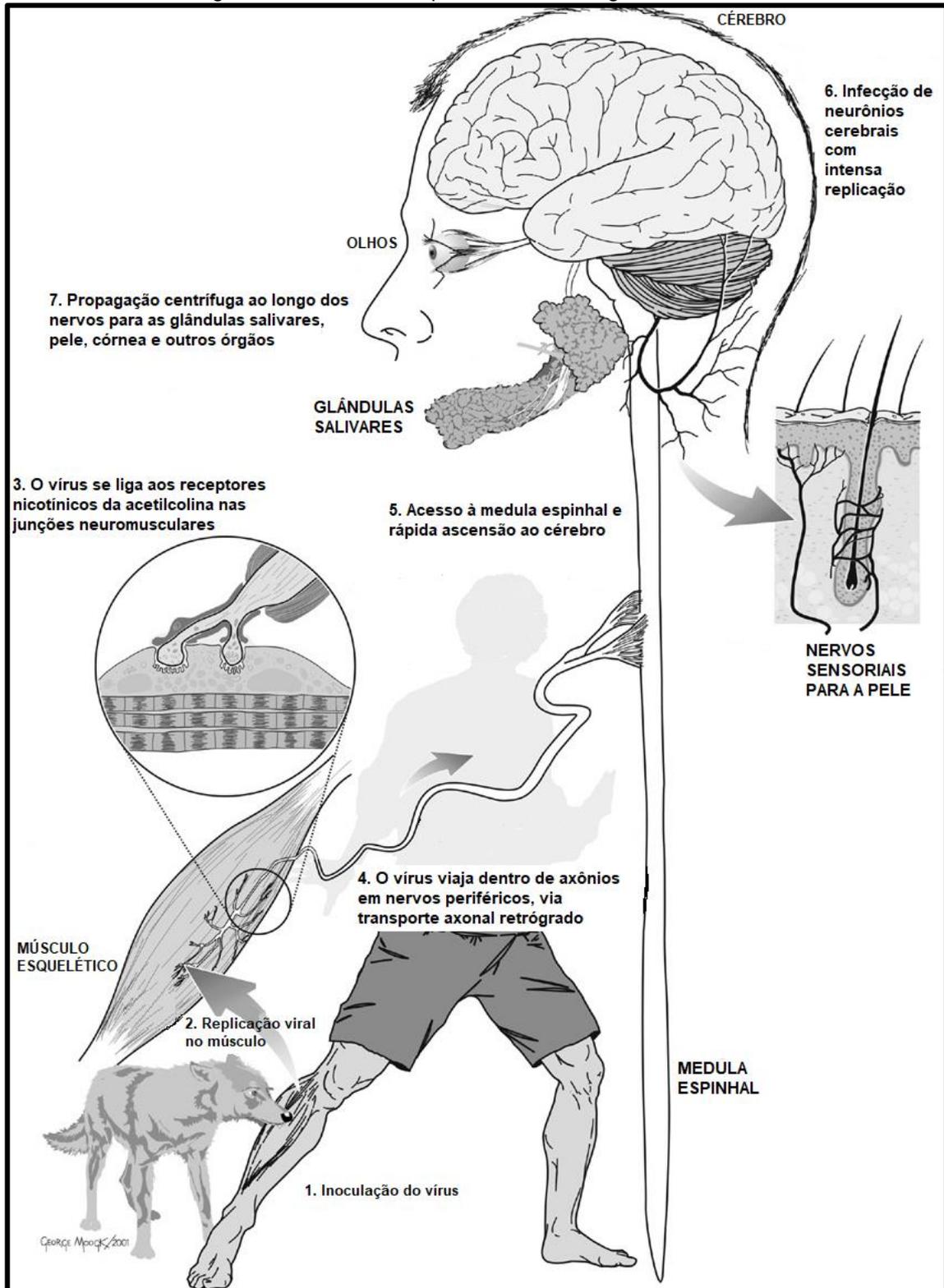
Os sinais clínicos se apresentam de várias formas, dependendo da espécie afetada e da cepa do vírus envolvido. O vírus relacionado ao cão geralmente provoca o aparecimento de sinais da raiva furiosa, já o vírus relacionado aos morcegos provocam os sinais da raiva parálitica (HEINEMANN, et al., 2002; KOBAYASHI, et al., 2006). Bovinos apresentam inicialmente o isolamento e seguem numa sequência de acordo com a evolução da doença, com salivação, dificuldade para defecar e urinar, andar cambaleante, dificuldade para deglutição, paralisia dos membros posteriores, movimentos de pedalagem dos membros posteriores e anteriores, a morte ocorre entre o 3º e o 7º dia após o início dos sintomas (IDARON, 2022; INDEA-MT, 2022; KOTAIT, et al., 2009). A sintomatologia nas demais espécies de interesse pecuário costumam ser semelhante à dos bovinos (KOTAIT, et al., 2009).

2.3 Patogenia

O vírus rábico afeta o sistema nervoso dos mamíferos, sendo um patógeno extremamente hábil para escapar das defesas do hospedeiro (LAFON, 2005). A transmissão pode ocorrer pela saliva infectada, através de mordidas e arranhões

(LAFON, 2013) (Figura 07), por aerossóis (LAFON, 2005) e por transplante de órgãos (BATISTA, et al., 2007).

Figura 07 - Desenho esquemático da Patogenia da Raiva.



Fonte: Adaptado de Jackson & Fu, 2013

O vírus tem acesso ao SN através de um nervo sensorial pelos eixos nervosos (LAFON, 2005) ou, quando dentro de uma célula não nervosa, como as células musculares, pode replicar e chegar ao sistema nervoso periférico pelas junções neuromusculares (FOOKS, et al., 2014; LAFON, 2005). A seguir movimenta-se para o SNC, através dos axônios, no sentido retrógrado (FOOKS, et al., 2014; LAFON, 2005).

Quando adentra diretamente a um neurônio motor, o vírus se replica no corpo celular e nos dendritos. Em seguida, transportam-se pelos axônios até chegar na medula espinhal e desta ao SNC (FOOKS, et al., 2014; LAFON, 2005), a uma velocidade de 12mm/dia (JACKSON, 2013). No encéfalo, após uma replicação massiva, os vírus espalham-se para as glândulas salivares (FOOKS, et al., 2014; LAFON, 2013) e órgãos como o fígado, pele, (FOOKS, et al., 2014), coração e olhos (JACKSON, 2008), através dos nervos cranianos (LAFON, 2005). Nas glândulas salivares, a transmissão ao próximo hospedeiro ocorre através da mordida (THOULOZE, et al., 2003).

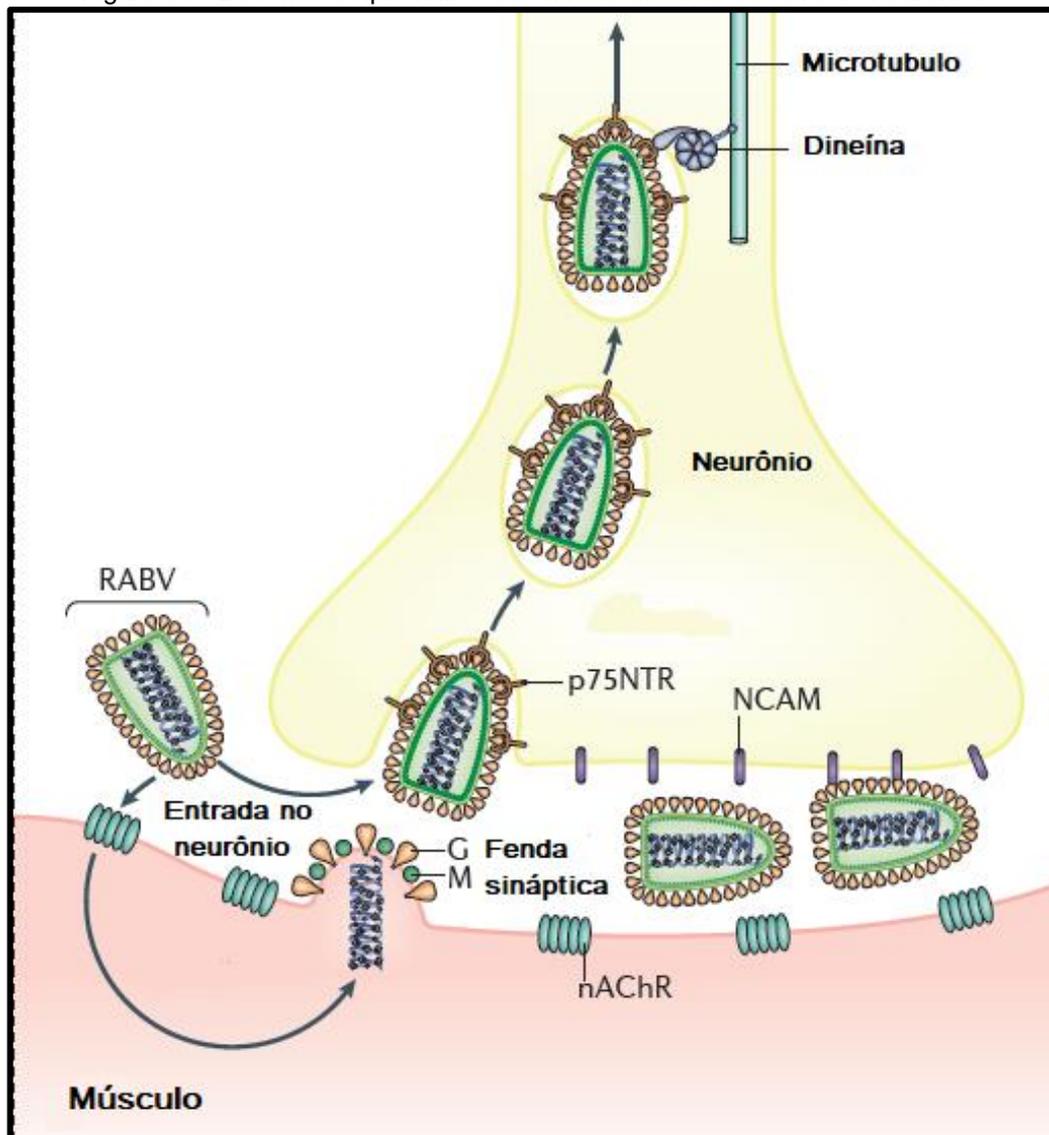
O ciclo de vida do vírus rábico está dividido em muitos eventos. Primeiramente inicia com a fixação do vírus à superfície da célula alvo, por meio das unidades de receptor celular (URC), que permitem a entrada do vírus em células susceptíveis (Figura 08). As URCs podem ser lipídios, carboidratos, proteínas, entre outros, porém não se sabe qual realmente é o receptor específico para o vírus da raiva (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013). Esses receptores parecem ser incapazes de funcionarem sozinhos, geralmente trabalham em duplas (SCHNELL, et al., 2010).

Os possíveis candidatos a receptores são: o receptor nicotínico de acetilcolina – nAChR (junções neuromusculares), molécula de adesão de células neurais – NCAM – CD56 (células susceptíveis ao vírus rábico), receptor de neurotrofina de baixa afinidade – p75NTR (fator de crescimento nervoso) (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013), e ainda carboidratos, lipídios e gangliósidos cujas funções não estão bem estabelecidas (SCHNELL, et al., 2010).

O vírus rábico possui uma estratégia curiosa pois não depende somente de um tipo de receptor nas células susceptíveis e isso facilita sua fixação na célula hospedeira. Após a adesão à membrana da célula, ocorre a penetração ou

internalização de várias formas: endocitose mediada por receptores (fagocitose ou pinocitose) e poços revestidos (viropexis – 2 a 5 vírus) (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Figura 08 - Desenho esquemático da entrada do vírus da raiva ao neurônio.



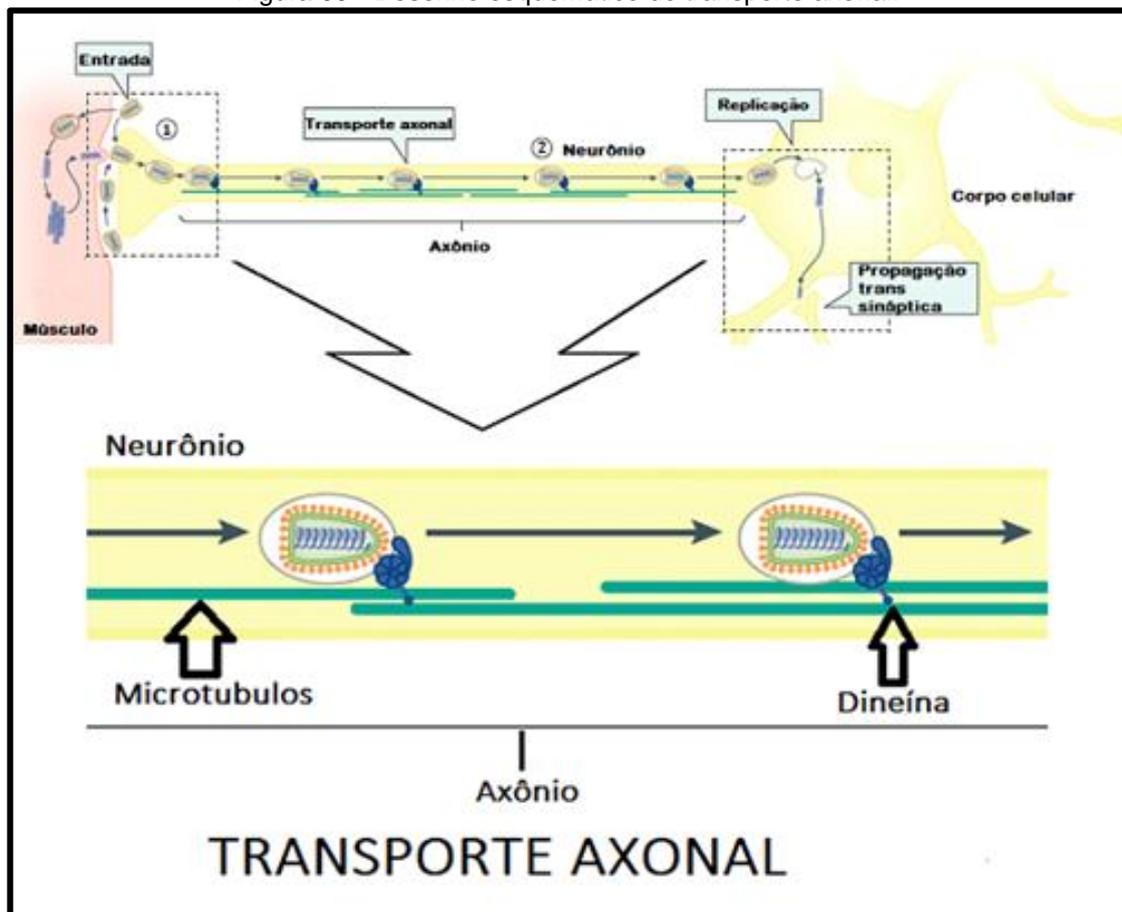
A localização e utilização dos receptores de membrana pelo vírus da raiva para entrar no neurônio pela junção neuromuscular.
Fonte: Adaptado de Fooks, et al., 2017.

Independentemente do método utilizado para internalização a fusão entre as membranas virais e endossômicas é ativada em ambiente ácido (pH 6,3 – 6,5), e a proteína G é a responsável por proporcionar a internalização do vírus à célula susceptível (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013).

Os mecanismos da internalização são desconhecidos e, para que isso ocorra, é necessário a mudança do pH. Os vírus já foram detectados em diversos locais diferentes, em lisossomos, em vesículas não revestidas e revestidas por clatrina (SCHNELL, et al., 2010). Katz e colaboradores (2016) sugerem que os vírus da raiva de diferentes reservatórios utilizam diferentes moléculas da superfície celular das células hospedeiras para entrar, através de diferentes receptores em suas glicoproteínas (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013).

A propagação do vírus da raiva se dá de forma retrógrada, ou seja, contrário ao sentido dos impulsos nervosos. Geralmente o vírus rábico entra no neurônio pelos dendritos, e precisa ser transportado pelos axônios até o corpo celular para poder realizar a replicação e a transcrição utilizando a maquinaria da célula (Figura 09). Esse transporte também é pouco conhecido, há várias teorias sobre esse processo (SCHNELL, et al., 2010).

Figura 09 - Desenho esquemático do transporte axonal.



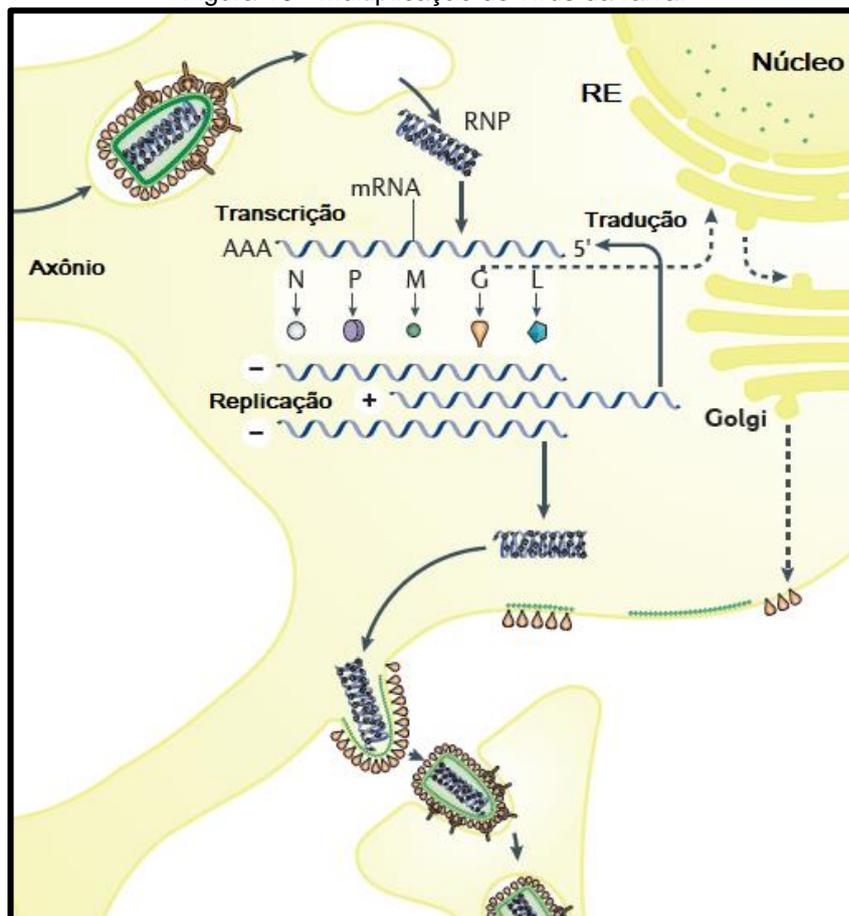
Movimento do vírus da raiva pelo axônio do neurônio.

Fonte: Adaptado de Fooks, et al., 2017.

Há supostos mecanismos que realizam essa ação, através da dineína citoplasmática, através da ligação entre a fosfoproteína com a cadeia leve da Dineina8, e também através da própria vesícula gerada pela glicoproteína que proporciona a energia necessária para que a vesícula chegue até o corpo celular. Teoricamente cada cepa diferente do vírus rábico possui vários receptores diferentes para realizar este transporte (SCHNELL, et al., 2010).

A etapa seguinte inicia com o desenvolvimento, e ocorre quando o complexo ribonucleoproteína é liberado no citosol da célula hospedeira, ele está condensado e na forma helicoidal, e necessita relaxar para ser ativado (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013). Após o relaxamento do genoma inicia-se a transcrição, processo que o RNA de cada gene, que está no sentido negativo, precisa ser transcrito em mRNA monocistrônicos (fita positiva) para poder ser traduzido em proteínas (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013) (Figura 10).

Figura 10 - Multiplicação do vírus da raiva.



A transcrição, tradução, replicação e a saída do vírus do neurônio.

Fonte: Adaptado de Fooks, et al., 2017.

Os vírus de sentido negativo, sempre carregam sua própria RNA polimerase dependente de RNA para a síntese proteica, pois as células animais não possuem estas polimerases. O complexo da polimerase inicia a transcrição pela sequência líder 3', interrompe a transcrição na sequência de parada (U/ACUUUUUU), ignora as sequências intergênicas e reinicia a transcrição na sequência de iniciação (UUGURRNGA), onde R = Guanina ou Adenina, e N = qualquer nucleotídeo (SCHNELL, et al., 2010; WUNNER & CONZELMANN, 2013).

A taxa de replicação das cepas do vírus da raiva é inversamente proporcional à sua patogenicidade (KATZ, et al., 2016). A tradução ocorre após a transcrição do RNA em mRNA (as cinco fitas monocistrônicas positivas) e um RNA total sentido positivo, o anti-genoma, que servirá de molde para a replicação do RNA viral. As proteínas do vírus são sintetizadas a partir dos mRNA virais, com a utilização da maquinaria da célula hospedeira (SCHNELL, et al., 2010).

A síntese das proteínas N – P – M e L ocorrem no citoplasma, a única proteína que não é sintetizada livre no citoplasma é a proteína G, que é traduzida através do G-mRNA no lúmen do retículo endoplasmático, e é transportado pelo Complexo de Golgi até a superfície celular onde vai se associar à proteína M (SCHNELL, et al., 2010). Quando M começa a acumular no citoplasma ela interage com o fator de iniciação da tradução da célula, inibindo a tradução dos mRNA virais e também os da célula hospedeira, pois os mRNA virais não se distinguem dos mRNA da célula hospedeira, afetando também a síntese proteica desta célula (WUNNER & CONZELMANN, 2013). Estudos indicam que a replicação e a transcrição ocorrem no Corpúsculo de Negri, pois foi encontrado no interior destes corpúsculos proteínas utilizadas nestas fases da replicação do vírus (SCHNELL, et al., 2010).

A montagem dos novos vírions inicia quando os RNA genômicos se unem às proteínas N, L e P formando o complexo ribonucleoproteína, em seguida estes RNPs se associam a M, alterando o equilíbrio entre a transcrição e a replicação do RNA viral, o que inibe a transcrição e estimula a replicação. Esta mesma proteína altera a estrutura do RNP deixando-o fortemente enrolado (onde a atividade da polimerase fica inativa), dando assim a forma balística ao futuro vírion. A proteína G interage com M que participa do RNP, nesta interação M estabiliza G na superfície do vírion, e aumenta a eficiência do brotamento. Quando há ausência ou pouca quantidade de M a brotação é pouco eficiente. No vírion pronto para o brote o M fica entre o envelope

de bicamada lipídica (da célula hospedeira) e o RNP helicoidal (OKUMURA & HARTY, 2011; WUNNER & CONZELMANN, 2013).

O próximo passo, após a montagem dos novos vírions, é o brotamento, que é a liberação dos vírions para o exterior da célula utilizada para replicação, e estes novos vírions se espalham provavelmente de célula a célula, podendo ser para células contíguas ou pelos espaços intersticiais até às células não contíguas, e quando alcança o SN se propaga exclusivamente por sinapse (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

A disseminação eficiente dos vírus vai depender de G, este gene determina as diferenças fenotípicas relativas à virulência e à neuroinvasividade. Via sinapse, o vírus rábico viaja longas distâncias dentro das células e sobrevive quando se propaga de célula a célula, apesar dos mecanismos de proteção imunológica (WUNNER & CONZELMANN, 2013).

2.4 Imunologia

A capacidade deste vírus é peculiar, possuindo muitos mecanismos para que sua presença no corpo do animal não seja percebida. O neurônio infectado não é destruído, permanecendo intacto para que o vírus seja transportado até o corpo celular, e utiliza de várias estratégias para não permitir a ativação das respostas imunes humorais. As funções vitais do neurônio não são afetadas e o vírus passa despercebido pelo sistema imune (SCHNELL, et al., 2010). A maioria dos microorganismos, quando infectam uma célula, replicam-se e causam a morte celular. Porém, alguns microorganismos, quando infectam um animal, utilizam-se de muitos mecanismos para driblar o sistema imune do mesmo. O vírus rábico, além de manipular este sistema, também mantém os neurônios capazes de realizar suas funções, enquanto os utiliza para chegar ao SNC (LAFON, 2004).

Antes de adentrar ao SN, quando ainda está nas células musculares e epiteliais, o vírus sofre os efeitos da primeira linha de defesa, que vai tentar eliminar o invasor no local da mordida, através dos linfócitos B e T. Após o vírus rábico adentrar nos neurônios, estes são protegidos por células T infiltrantes e outros engenhos que

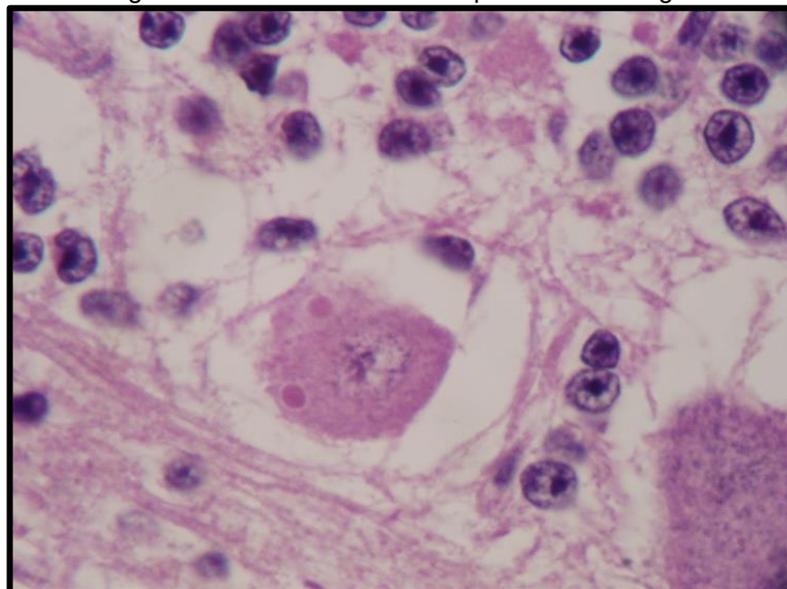
restringem a inflamação, impedindo sua destruição (LAFON, 2013). Segundo Alcamí & Koszinowski (2000), essa manipulação consiste de vários mecanismos para evitar a destruição após invadir o organismo do animal pelo sistema imunológico, tais como: bloqueio da apoptose dos neurônios, ativação da apoptose de células T e natural killer (NK) do hospedeiro, e evitando ataques das células NK e linfócitos citotóxicos (THOULOZE, et al., 2003).

Cepas atenuadas do vírus da raiva aumentam a expressão das citocinas, a permeabilidade da barreira hematoencefálica e, conseqüentemente, a infiltração das células inflamatórias no SNC e a chance de sobrevivência, porém os danos ao tecido cerebral é muito maior comparado com cepas mais virulentas (APPOLINÁRIO-HARARY, 2014).

2.5 Diagnóstico

Apesar de ser conhecida, apenas em 1903 foi registrado o primeiro método diagnóstico pelo microbiologista e patologista italiano Adelchi Negri, que visualizou inclusões nos neurônios afetados, inclusões que levaram o nome do seu descobridor, os Corpúsculos de Negri (Figura 11).

Figura 11 - Neurônios com Corpúsculos de Negri.



Seção histológica de encéfalo.
Coloração de hematoxilina e eosina neurônios com inclusões (eosinofílicas).
Fonte: Gentilmente cedida pelo Laboratório de Patologia/UFMT.

A coloração de Sellers em 1923 chegou para facilitar a visualização destes corpúsculos. Em 1954, o Comitê de Especialistas em raiva emitiu um relatório descrevendo o isolamento por cultura de células. Em 1958 Goldwasser & Kissling introduziram o método que ainda hoje é o padrão ouro para o diagnóstico da raiva, a imunofluorescência direta (IFD). Em 1966 foi publicada a técnica, que ainda é utilizada juntamente com a IFD para diagnóstico da raiva, a inoculação em camundongo ou prova biológica, idealizada pelo imunologista e virologista polonês Hilary Koprowski (HALON & NADIN-DAVIS, 2013).

Não se deve descartar definitivamente a raiva diante de um teste negativo apenas por uma das técnicas, especialmente se estamos diante de um caso com sinais clínicos compatíveis (HALON & NADIN-DAVIS, 2013). Muito antes de obter sucesso com a vacina contra a raiva, Louis Pasteur teve êxito, na França, em trabalhos com vários microrganismos, e os conhecimentos adquiridos com outros microrganismos auxiliaram Pasteur nos estudos com o vírus da raiva (BERCHE, 2012; BORDENAVE, 2003).

Somente no século XIX d.C., o agente da enfermidade foi identificado por Pasteur como um microrganismo tão pequeno que não podia ser observado, nem com a ajuda de microscópios da época (BORDENAVE, 2003; TEIXEIRA, 1995). Deste século em diante muitos estudos foram realizados a fim de conseguir o melhor método diagnóstico, visto que a enfermidade afeta o SNC e coletar amostras *ante mortem* sem danos seria impossível na época.

2.5.1 Técnicas diagnósticas

- **IFD – Imunofluorescência direta:** Esta técnica é sensível, específica e rápida, porém dispendiosa e de alto nível técnico. Esta sensibilidade é diminuída para materiais decompostos ou em decomposição. Nesta técnica anticorpos do vírus da raiva são conjugados com fluoresceína e esta mistura é aplicada em lamínas com imprints das amostras de SNC de animais suspeitos. Os anticorpos conjugados vão se ligar aos vírus que infectam os neurônios, e ficarão fluorescentes quando observados ao microscópio de fluorescência (HALON & NADIN-DAVIS, 2013).

- **Prova biológica:** Técnica que utiliza a inoculação da amostra a ser testada via intracerebral em camundongos. Esta técnica não funciona para amostras armazenadas por muito tempo, preferência por amostras frescas. E a mesma tem longo tempo para emitir um resultado, de 21 a 28 dias (HALON & NADIN-DAVIS, 2013). Esta técnica vem sendo contestada e substituída por outras técnicas, como a cultura em células, devido aos protocolos do Bem estar animal.

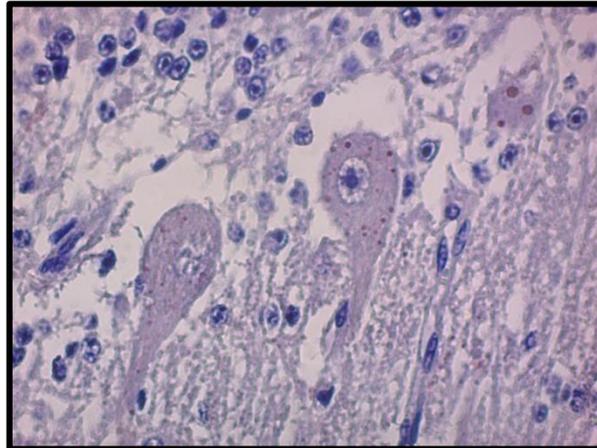
- **RT-PCR – Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase:** Teste de alta sensibilidade e especificidade, que pode ser utilizada *pos mortem* (utilizando tecidos do SNC: tronco cerebral, cerebelo e hipocampo) e *ante mortem* (utilizando saliva, pele, glândulas salivares). Em humanos, utiliza-se biopsia de pele da nuca com folículos pilosos inervados, soro e Líquido cefalorraquidiano. Funciona bem em materiais decompostos, e armazenados a longo tempo. É um teste rápido, e pode fornecer várias informações, além do resultado positivo ou negativo, ele pode informar qual o vírus/genótipo (comparando com outros vírus da família), o possível reservatório, e em qual região circula. Seu grande inconveniente é o nível técnico elevado para a execução (HALON & NADIN-DAVIS, 2013).

- **Imunohistoquímica**
 - **Direta:** Esta técnica é mais empregada em pesquisas do que em diagnósticos, pois o principal reagente, complexo estreptavidinperoxidase, não está disponível (HALON & NADIN-DAVIS, 2013).

 - **Em parafina fixada em formalina:** Técnica que precisa de aproximadamente uma semana para resultado, pode ser realizada em amostras fixadas com formol. Deve ser infiltrada com parafina, cortada em micrótomo, fixada em lâmina de microscópio, e após realiza-se procedimento imunohistoquímico para finalmente ser observada em microscópio para detectar a presença do antígeno (Figura 12). Importante enfatizar que as amostras formolizadas degradam os ácidos

nucleicos, e pode diminuir a sensibilidade da RT-PCR, se estas forem utilizadas para este teste (HALON & NADIN-DAVIS, 2013). Segundo Achkar, et al. (2010) esta técnica demonstrou baixa sensibilidade em amostras de hipocampo, comparadas com a IFD.

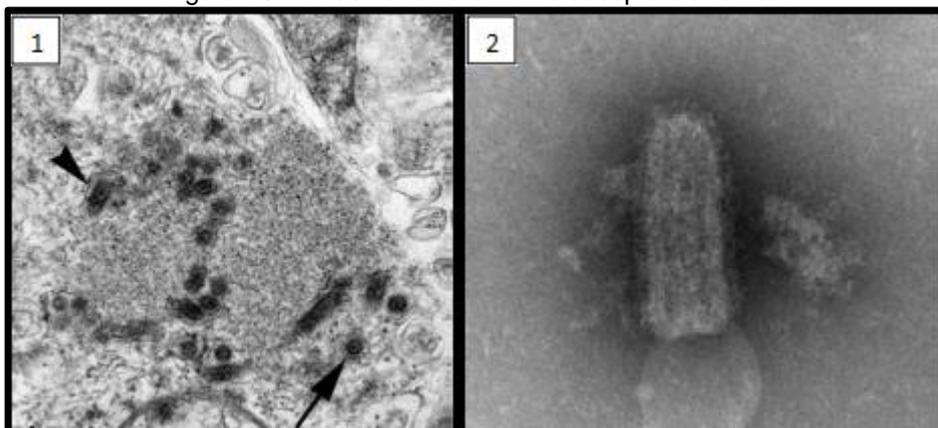
Figura 12 - Técnica de imunohistoquímica para amostra positiva para raiva.



Imuno-histoquímica de neurônios com inclusões (marrom).
Fonte: Gentilmente cedida pelo Laboratório de Patologia/UFMT.

- **Microscopia eletrônica:** Utilizada para visualizações dos vírus em forma de projétil (Figura 13). Esta técnica usa equipamentos sofisticados e caros, necessita de habilidade especializada para ser realizada e é pouco sensível (HALON & NADIN-DAVIS, 2013).

Figura 13 - Vírus da raiva em microscopia eletrônica.



Imagens ultraestrutural de transmissão de neurônio humano com vírus da raiva. (1) Corpos de Negri composto de material granular e virions cortados tangencialmente (ponta de seta) e em seção transversal (seta). (2) Coloração negativa de um vírion RABV em forma de bala de tecido cerebral homogeneizado, com projeções superficiais curtas e um nucleocapsídeo interno. Barras, 100 nm. (A imagem 2 é cortesia de Maureen Metcalfe e Atis Muehlenbachs, Centros de Controle e Prevenção de Doenças). Fonte: Goldsmith, & Zaki, 2015.

- **Soroneutralização:** Teste para quantificar os anticorpos neutralizantes contra o vírus da raiva, geralmente utilizada para a titulação de pessoas que trabalham diretamente com materiais suspeitos para verificar os níveis de anticorpos, e também pode ser utilizada para diagnóstico em animais sabidamente não vacinados, com sinais clínicos presentes e compatíveis. Titulação mínima 0,5UI/mL (WHO, 1992).

2.6 Diferencial

Doença de notificação imediata, a raiva é uma enfermidade que provoca sintomas nervosos inespecíficos, e o diagnóstico diferencial é importante. Doenças que causam sinais neurológicos podem ser confundidas com raiva. Entre as enfermidades que são de diferencial obrigatório estão a Encefalopatia Espongiforme Bovina, para bovinos e bubalinos com mais de 24 meses, negativos para raiva, e o *Scrapie* para pequenos ruminantes acima de 12 meses de idade, também negativos para raiva. Outras enfermidades que também podem ser testadas como diferenciais são as Encefalomielite Equinas do Leste e do Oeste, a Febre do Nilo Ocidental, a Encefalomielite Equina Venezuelana, Herpesvírus, meningite bacteriana, Febre Catarral maligna, Doença de Aujeszky, hipocalcemia, traumatismos, intoxicações e infecções (BRASIL, 2022).

2.7 Tratamento e prevenção

2.7.1 Tratamento

Esta enfermidade não tem tratamento conhecido, nem para humanos nem para animais. O protocolo de Milwaukee tem sido considerado o tratamento para humanos contra a raiva. Porém, fora utilizado em vários pacientes, resultando em sucesso com alguns e fracasso com muitos outros (JACKSON, 2010; JACKSON, 2013; WHO, 2018). Este protocolo é uma conciliação de terapias medicamentosas, com midazolam, fenobarbital, quetamina e terapia antiviral com ribavirina e amantadina (JACKSON, 2010; JACKSON, 2013).

O protocolo de profilaxia pré, pós e reexposição da raiva humana realizado no Brasil foi atualizado em março/2022 (Figura 14), baseado nas recomendações

previstas no protocolo da Organização Mundial da Saúde - OMS (World Health Organization (WHO) Expert Consultation on Rabies, Third report), a Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial (CGZV/DEIDT/SVS/MS) e a Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações (CGPI/DEIDT/SVS/MS) (BRASIL-MS, 2022).

Figura 14 - Profilaxia da raiva para humanos.

PROFILAXIA DA RAIVA HUMANA PÓS-EXPOSIÇÃO				
TIPO DE EXPOSIÇÃO	ANIMAL AGRESSOR			
	CÃO OU GATO		MAMÍFERO DOMÉSTICO DE INTERESSE ECONÔMICO: bovídeos, equídeos, caprinos, suínos e ovinos	MORCEGOS E OUTROS MAMÍFEROS SILVESTRES (inclusive os domiciliados)
	Animal passível de observação por 10 dias e sem sinais sugestivos de raiva	Animal não passível de observação por 10 dias ou com sinais sugestivos de raiva		
CONTATO INDIRETO - tocar ou dar de comer para animais - lambedura em pele íntegra - contato em pele íntegra com secreções ou excreções de animal, ainda que raivoso ou de caso humano	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. NÃO INDICAR PROFILAXIA 		<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. NÃO INDICAR PROFILAXIA 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. NÃO INDICAR PROFILAXIA
LEVE - ferimento superficial no tronco ou nos membros, exceto mãos e pés - lambedura de lesões superficiais	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. NÃO INICIAR PROFILAXIA. Manter o animal em observação por 10 dias. Se permanecer vivo e saudável, suspender a observação no 10º dia e encerrar o caso. Se morrer, desaparecer ou apresentar sinais de raiva, indicar VACINA* dias 0, 3, 7 e 14 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. INICIAR PROFILAXIA: VACINA* dias 0, 3, 7 e 14 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. INICIAR PROFILAXIA: VACINA* dias 0, 3, 7 e 14 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão.
GRAVE - ferimento nas mucosas, no segmento cefálico, nas mãos ou nos pés - ferimentos múltiplos ou extensos, em qualquer região do corpo - ferimento profundo, mesmo que puntiforme - lambedura de lesões profundas ou de mucosas, mesmo que intactas - ferimento causado por mamífero silvestre	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. NÃO INICIAR PROFILAXIA. Manter o animal em observação por 10 dias. Se permanecer vivo e saudável, suspender a observação no 10º dia e encerrar o caso. Se morrer, desaparecer ou apresentar sinais de raiva indicar VACINA* (dias 0, 3, 7 e 14) e SORO (SAR ou IGHAR)* 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. INICIAR PROFILAXIA: VACINA* (dias 0, 3, 7 e 14) e SORO (SAR ou IGHAR)* 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar com água e sabão. INICIAR PROFILAXIA: VACINA* (dias 0, 3, 7 e 14) e SORO (SAR ou IGHAR)* 	<ul style="list-style-type: none"> INICIAR PROFILAXIA: VACINA* (dias 0, 3, 7 e 14) e SORO (SAR ou IGHAR)*
OBSERVAÇÕES:				
*VACINA 4 (quatro) doses, nos dias 0, 3, 7 e 14	A vacina deverá ser administrada por Via Intradérmica ou Via Intramuscular. Via Intradérmica: Volume da dose: 0,2mL. O volume da dose deve ser dividido em duas aplicações de 0,1mL cada e administradas em dois sítios distintos, independente da apresentação da vacina, seja 0,5 mL ou 1,0 mL (dependendo do laboratório produtor). Local de aplicação: inserção do músculo deltoide ou no antebraço. Via Intramuscular: Dose total: 0,5mL ou 1,0 mL (dependendo do laboratório produtor). Administrar todo o volume do frasco. Local de aplicação: no músculo deltoide ou vasto lateral da coxa em crianças menores de 2 (dois) anos. Não aplicar no glúteo.			
•SORO (SAR ou IGHAR)	O SAR , ou a IGHAR , deve ser administrado no dia 0. Caso não esteja disponível, aplicar o mais rápido possível até o 7º dia após a aplicação da 1ª dose de vacina. Após esse prazo é contraindicado. Existindo clara identificação da localização da(s) lesão(ões), recentes ou cicatrizadas, deve-se infiltrar o volume total indicado, ou o máximo possível, dentro ou ao redor da(s) lesão(ões). Se não for possível, aplicar o restante por via IM, respeitando o volume máximo de cada grupo muscular mais próximo da lesão. Soro antirrábico (SAR): 40 UI/k de peso Imunoglobulina humana antirrábica (IGHAR): IGHAR 20 UI/k de peso			

Fonte: BRASIL - MS, 2022

2.7.2 Prevenção

Esta é a melhor estratégia para combater o crescimento e manutenção da raiva em animais e humanos. A prevenção baseia-se em uma vigilância bem elaborada, adicionada a testes diagnósticos modernos e mais rápidos, juntamente com a vacinação de humanos e animais. Entretanto, biológicos orais para animais selvagens têm a desvantagem de não funcionar com todos os silvestres. Alguns tipos de vacinas, como a ALVAC (Vírus varicela), funcionam para os guaxinins, coiotes e gatos. Já a Vacina de Copenhagem não funciona em gambás e cães (WUNNER & BRIGGS, 2010).

Originadas de passagens do PV (Vírus Pasteur – isolado em 1882 de um bovino raivoso), as cepas de “vírus fixo” utilizadas para a produção de vacinas são a CVS (*Challenge Virus Standard*), as Flury LEP (*Low Egg Passage* – baixa passagem) e HEP (*High Egg Passage* – alta passagem), a Pitman-Moore (PM), SAD, Kelev e DR-19 (KOTAIT, et al., 2009).

O Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso executa várias atividades relacionadas às enfermidades de notificação obrigatória, entre estas enfermidades está a raiva. Uma das estratégias muito utilizada pelos programas sanitários da raiva além da vacinação, é o controle populacional do morcego hematófago *Desmodus rotundus*, realizado através da captura destes animais, a identificação dos mesmos, e o tratamento com pasta vampiricida, que contém substância anticoagulante (BRASIL, 2009; INDEA, 2022).

O atendimento a notificações de animais com sinais nervosos, e de agressões a animais por morcegos também é realizado pelo INDEA. Os servidores realizam toda a investigação epidemiológica do caso, coletam as amostras necessárias e as encaminham para o LASA, onde é realizada a técnica diagnóstica IFD. Em caso negativo na IFD, a Prova Biológica é realizada para confirmação do diagnóstico.

2.8 Biossegurança

As amostras de rua do vírus rábico, são classificadas como classe de risco 3, e como tal devem ser tomados todos os cuidados na manipulação de material com suspeita de contaminação (BRASIL, 2008). A utilização do equipamento de proteção individual é fundamental para a prevenção da contaminação pelo vírus rábico em pessoas que manipulem animais e/ou amostras suspeitas de infecção pelo vírus. Além da imunização pré-exposição e a contínua verificação da titulação através de

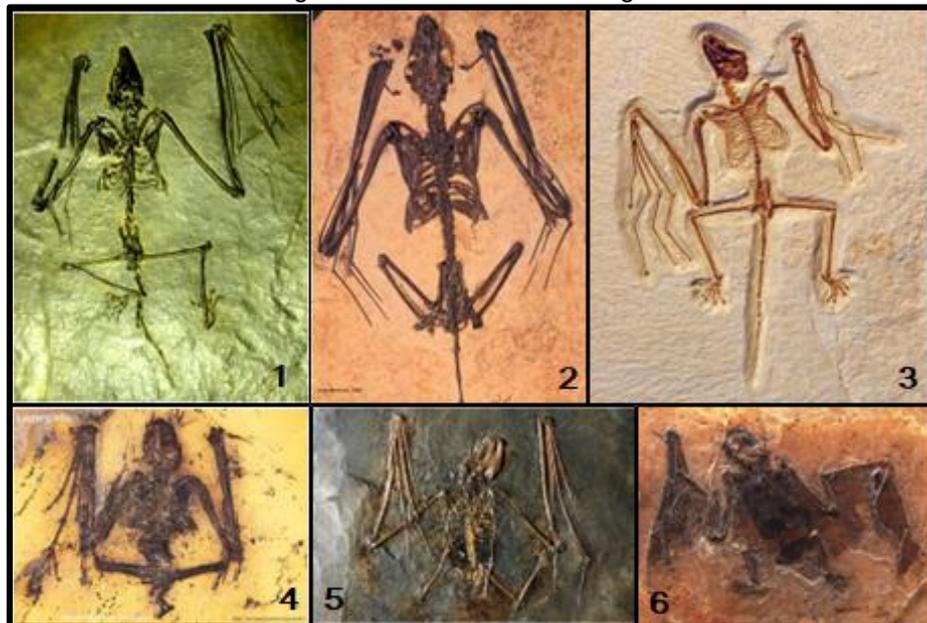
sorologias regulares (HALON & NADIN-DAVIS, 2013). Os laboratórios devem estabelecer um Programa Operacional Padrão para assim mitigar os riscos de contaminação, e prevenir acidentes (BRASIL, 2008).

2.9 Morcegos

A palavra “chiroptero” vem do grego *cheir* (mão) e *pteron* (asa) (NOVAES, 2008; REIS, et al., 2007), a palavra morcego vem do latim *muris* (rato) *coecus* (cego), o hábito noturno destes animais também tem significado em grego *vespertilio* e em latim *nycteris*. No Brasil colônia os índios chamavam os morcegos de Andirá, Guandira ou Guandiruçu (REIS, et al., 2007). Morcego significava “vigilância” na Antiguidade, e seu olho protegia contra a sonolência. Os Maias cultuavam o Deus-Morcego “Acanceh”, na China simboliza a felicidade, onde 5 morcegos juntos significam os bens terrenos: idade avançada, riqueza, saúde, amor virtuoso e morte natural (REIS, et al., 2007).

Os morcegos são animais que vem evoluindo há mais de 54 milhões de anos (ROSSETI, 2018) (Figura 15). São animais com várias habilidades que foram adquiridas ao longo do tempo (GUPTA, et al., 2021).

Figura 15 - Fósseis de morcegos.



1 - *Australonycteris* (54,6 milhões de anos atrás, Austrália); 2 - *Icaronycteris* (52,2 milhões de anos atrás, Índia); 3 - *Onychonycteris* (52 milhões de anos atrás, região da formação do Rio Verde - EUA); 4 - *Archaeonycteris* (48 a 37 milhões de anos atrás, Alemanha, França, Inglaterra e Índia); 5 - *Palaeochiropterys* (48 milhões de anos atrás, Alemanha); 6 - *Hassianycteris* (48 a 40 milhões de anos atrás, Alemanha). Fonte: Rosseti, 2018.

Sua longevidade é acima do esperado, vivem 9,8 vezes mais que qualquer outro animal de porte semelhante ao seu, podem chegar a mais de 40 anos (FOLEY, et al., 2018; PODLUTSKY, et al., 2005). O recorde é da espécie *Myotis brandtii* que foi capturado e anilhado por volta de 1962, quando 1544 morcegos foram capturados em cavernas na região cárstica de Biryusa, na Sibéria (Rússia), e este fora recapturado hibernando 41 anos depois. Há também 6 espécies que vivem mais de 30 anos, e 22 espécies que vivem mais de 20 anos (PODLUTSKY, et al., 2005). Esta longevidade pode ser explicada pela baixa taxa de encurtamento dos telômeros analisada por Foley e colaboradores (2018). Eles também são velozes, podem chegar a 160km/h. Essa velocidade foi detectada na espécie *Tadarida brasiliensis* no Texas (MC CRACKEN, et al., 2016).

Os morcegos são os únicos mamíferos com capacidade verdadeira de voar, esta habilidade permite que migrem a lugares distantes, aumentando a chance de transmitir agentes infecciosos por onde passem. O vôo dos morcegos é possível devido aos seus ossos ocos, como os das aves, semelhantes a dedos. A não produção de medula óssea também é uma adaptação para facilitar o vôo, e juntamente com a hibernação e as altas taxas metabólicas produzidas durante o vôo possibilitam a sobrevivência dos vírus nos morcegos. O transbordamento de vírus de morcegos para os seres humanos pode ocorrer influenciados por deficiência nutricional, gestação, lactação, carga viral ambiental, contato com os hospedeiros. A transmissão dos vírus para os animais e humanos pode ocorrer pelo contato, agricultura, urbanização, mudanças ambientais e alimentação. A hibernação, o vôo, e a migração facilitam a permanência e a sobrevivência dos vírus nos morcegos. Esta última influenciada pelo clima, pelo acasalamento e para contornar a endogamia (GUPTA, et al., 2021).

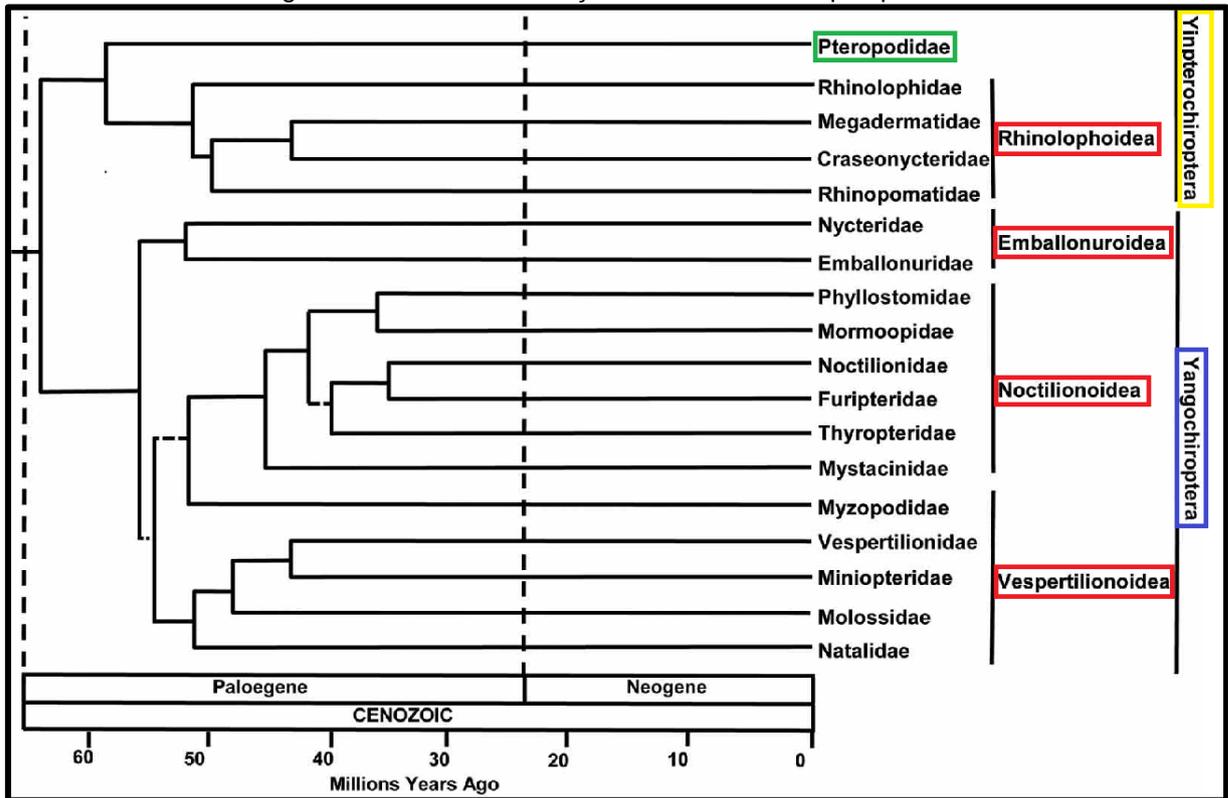
Quirópteros são muito discriminados devido sua aparência, por serem animais de hábitos noturnos, e pela má fama adquirida durante anos de desinformação a respeito das espécies (SCAVRONI, et al., 2008; TEIXEIRA & PAPAVERO, 2012).

Anteriormente os morcegos eram classificados em Megachiropteros e Microchiropteros levando em consideração o seu tamanho (REIS, et al., 2007). A Taxonomia dos quirópteros foi recentemente atualizada utilizando critérios com base em evidências morfológicas, moleculares e fósseis (LEI & DONG, 2016) (Figura 16).

Estão classificados em: Reino Animalia; Filo Chordata; Classe Mammalia; Ordem Chiroptera, que está subdividida em duas subordens: a Yinpterochiroptera

(Springer, Teeling, Madsen, Stanhope e Jong, 2001) - espécies com pré-maxilares removíveis do maxilar ou ausentes (HUTCHEON & KIRSCH, 2006; JONES & TEELING, 2006, SPRINGER, et al., 2001), que são ligadas ao maxilar via ligamentos (SIMMONS & GEISLER, 1998).

Figura 16 - Nova classificação taxonômica dos quirópteros.



As cores amarelo e azul correspondem às subordens; a cor verde corresponde à família e o vermelho às superfamílias. Fonte: Adaptado de JONES, et al., 2013.

Esta subordem contém uma família e uma superfamília: Pteropodidae (Gray, 1821) e Rhinolophoidea (Gray, 1825), respectivamente (Springer, Teeling, Madsen, Stanhope e Jong, 2001). A subordem Yangochiroptera (KOOPMAN, 1984) - espécies cujos pré-maxilares encontram-se fundidos ao maxilar (HUTCHEON & KIRSCH, 2006; JONES & TEELING, 2006), por cartilagem fibrosa ou fusão completa (SIMMONS & GEISLER, 1998). Ela conta com 3 superfamílias: Emballonuroidea (Gervais, 1855), Noctilionoidea (Gray, 1821) e Vespertilionoidea (Gray, 1821) (HUTCHEON & KIRSCH, 2006; JONES & TEELING, 2006; JONES, et al., 2013; SPRINGER, 2013).

A subordem Yinpterochiroptera não tem representantes no Brasil, distribuída pelo Velho Mundo, possui 07 famílias e 410 espécies. Já a subordem Yangochiroptera

possui 14 famílias com 938 espécies (FENTON, 2022), das quais 09 famílias, 68 gêneros e 181 espécies são descritas no Brasil (GARBINO, et al., 2020).

Estes animais representam 22% dos mamíferos existentes e, em se tratando de diversidade de espécie, fica atrás somente da ordem Rodentia que possui 235 espécies (NOVAES, 2008; REIS, et al., 2007).

A alimentação destes animais é bem variada, indo de frutas, insetos, nectar, a pequenos roedores, répteis, anfíbios, peixes, sangue e até outros morcegos. Com este amplo menu, as espécies de morcegos possuem uma importância no equilíbrio ambiental, sendo dispersando sementes, polinizando as flores, bem como controlando a população de insetos e outros pequenos animais silvestres (LAURINDO & NOVAES, 2015; MORATELLI & PERACHI, 2007; NOVAES, 2008; REIS, et al., 2007).

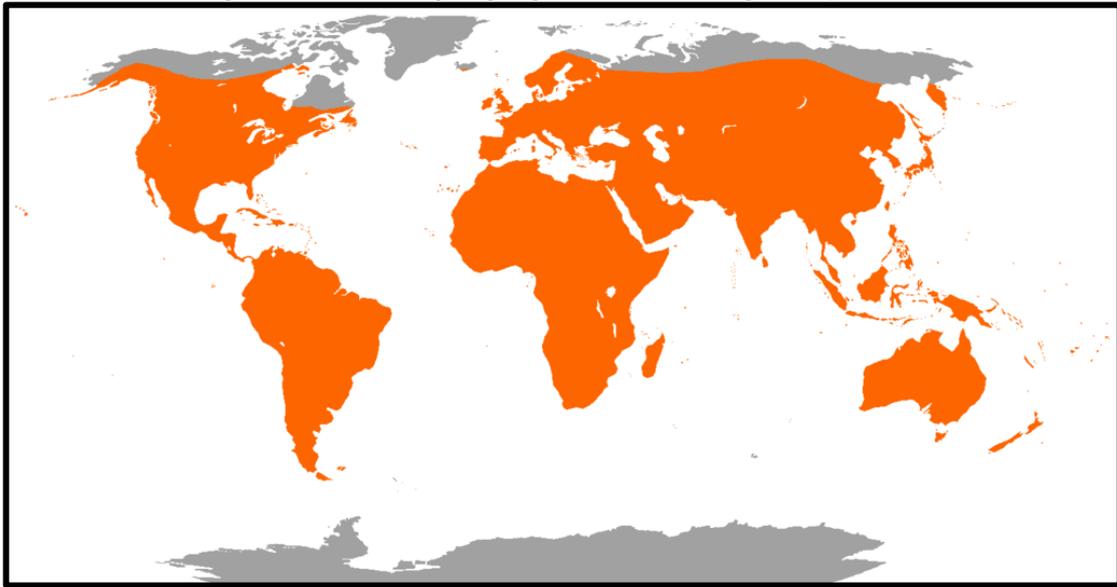
Apesar de todos os transtornos que os morcegos podem provocar, estes animais possuem uma grande importância na natureza e para os seres humanos nos mais diversos campos (PACHECO, et al., 2010; PINHEIRO, et al., 2018).

Como são capazes de voar dispersam sementes a longas distâncias; realizam polinização de plantas; são responsáveis por controle biológico de pequenos mamíferos, roedores, répteis, anfíbios e de vários tipos de insetos, especialmente os noturnos que não são predados por pássaros e outros animais diurnos. Fazem parte da cadeia alimentar. As fezes são utilizadas por outros animais como alimento e como adubo pelos humanos (LAURINDO & NOVAES, 2015; PACHECO, et al., 2010; PINHEIRO, et al., 2018). A saliva dos morcegos hematófagos vem sendo analisada e utilizada na produção de medicamentos principalmente para problemas vasculares (CIPRANDI, et al., 2003; KAKUMANU, et al., 2019) e o mecanismo de radar/sonar dos morcegos está sendo utilizado em pesquisas científicas em busca de novas tecnologias (JONES & TEELING, 2006; JONES, et al., 2013; SIMMONS & AUGER, 2021; TEIXEIRA, 2016).

2.9.1 Distribuição dos morcegos

Quirópteros são encontrados em todos os continentes, exceto na Antártida (HILL & SMITH, 1984; LAURINDO & NOVAES, 2015) (Figura 17).

Figura 17 - Distribuição geográfica dos morcegos no planeta.



Cor laranja representa presença de morcegos, cor cinza representa de ausência de morcegos. Adaptado de Laurindo & Novaes, 2015.

2.9.2 Morcegos hematófagos

Os morcegos hematófagos pertencem à Ordem Chiroptera, Sub-ordem Yangochiroptera, Família Phyllostomidae e à Subfamília Desmodontinae (Tabela 2) que possui três gêneros, o *Desmodus* (Wied-Neuwied, 1826), o *Diaemus* (Miller, 1906) e o *Diphylla* (Spix, 1823). As espécies são monotípicas e simpátricas, são a *Desmodus rotundus*, a *Diaemus youngii* e a *Diphylla ecaudata* respectivamente (REIS, et al., 2017).

A espécie *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy, 1810) (Figura 18) se alimenta preferencialmente de sangue de mamíferos (REIS, et al., 2007). Estes animais estão presentes nas Américas desde o México, norte da Argentina, norte do Chile e Uruguai (GREENHALL, et al., 1983; PANAFTOSA/SPV-OPS/OMS, 2022) (Figura 19), e já foi descrita em todos os estados brasileiros e o Distrito Federal (REIS, et al., 2007).

A pelagem desta espécie é curta, vai do cinza escuro ao marrom nas costas e acinzentada na parte inferior do corpo. Com focinhos curtos, dentes desenvolvidos para cortar, polegar bem desenvolvido e com duas calosidades, características da espécie (RISKIN & HERMANSON, 2005). Para detectar o melhor local para realizar a incisão, estes morcegos possuem termorreceptores com radiação infravermelha, que localizam onde o sangue quente flui (GRACHEVARA, et al., 2011).

Tabela 2 - Características da Subfamília *Desmodontinae*

	<i>Desmodus rotundus</i>	<i>Diphylla ecaudata</i>	<i>Diaemus youngii</i>
Registro fóssil	Pleistoceno	Pleistoceno	Sem registro fóssil
Distribuição Nacional	Todos os estados brasileiros e o Distrito Federal	AM, AC, PA, AP, TO, PE, BA, MG, RJ, SP, PR, ES, RO, CE, SE, SC	AM, AC, PA, AP, TO, PE, BA, MG, RJ, SP, PR, GO, AL, MS, MT
Pelagem	Curta; Dorso marrom acinzentado; Ventre cinza prateado	Densa; Dorso marrom escuro; Ventre marrom claro	Corpo de marrom claro a escuro
Antebraço	Poucos pelos 50-63mm	Muitos pelos 50-56mm	Poucos pelos 50-56mm
Boca	Sem glândula	Sem glândula	Glândula de cheiro
Pernas	Poucos pelos	Muitos pelos	Poucos pelos
Olhos	Pequenos	Grandes e redondos	Pequenos
Orelhas	Pontudas e separadas	Pequenas e arredondadas	Curtas com as pontas brancas
Calcâneo	Reduzido	Presente	Ausente
Incisivos	Superiores são pontiagudos e cortantes	Inferiores externos, amplos, forma de leque com 7 lóbulos	-----
Polegar	Alongado, forte, com 3 calos e 2 almofadas	Curtos e sem almofadas	Uma almofada
Asas	Cor do corpo	-----	Pontas brancas
Uropatágio	Poucos pelos	Muitos pelos	Poucos pelos
Porte	Médio	Médio	Médio
Peso	25-40g	24-43g	30-45g
Comp. Cabeça-corpo	69-90mm	65-93mm	Média de 85mm
Colônias	20-5000 indivíduos Vários tipos: M+F; M; F+filhotes; famílias	Solitários; 12 indiv. até 500 indivíduos → incomum	Até 30 indivíduos
Ambientes	Cavernas, poços, ocos de árvores, minas, edifícios abandonados → próximos à água	Cavernas, minas, raro em ocos de árvores	Cavernas e ocos de árvores
Dieta	Sangue de mamíferos de médio e grande porte, cães, humanos e aves	Sangue de aves, ocasionalmente gado	Sangue de aves de grande porte, galinhas, pavões, às vezes mamíferos
Reprodução	Cativeiro: gestação 170 dias → estações quentes/ chuvosas Natural: ano todo	Cativeiro: gestação 160 dias → estações quentes/ chuvosas Natural: ano todo	Na estação chuvosa, sem informações
Nº filhotes	1 por ano, gêmeos são raros	1 por ano	Sem informação
Hábitos sociais	Compartilham abrigos com outros morcegos, limpeza social, autolimpeza, compartilha alimento	Sem informação	Compartilha abrigos com outros morcegos

M-Macho; F-Fêmea. Fonte: Reis, et al., 2017.

Figura 18 - Morcego hematófago da espécie *Desmodus rotundus*.



Morcego vampiro comum capturados em Alta Floresta MT (2014), A- vista facial, B- de corpo inteiro. C e D - detalhe almofadas dos polegares.

Com os dentes especializados, cortam a pele, lambem a ferida, e a saliva possui componentes anticoagulantes e vasodilatadores que agem no local, sem a coagulação sanguínea, o sangue flui facilmente e pode ser ingerido no estado líquido (REDDROP, et al., 2005).

A língua possui ranhuras laterais que facilitam a ingestão do sangue (RISKIN & HERMANSON, 2005), além de sistema digestivo e renal adaptado para processar e absorver o plasma sanguíneo. O sistema de ecolocalização é bem desenvolvido (REIS, et al., 2007).

Além de voar, o *D. rotundus* caminha com desenvoltura, diferente dos outros morcegos. Caminha para frente, para trás e para os lados, inicia vôo com um único salto, e salta com velocidades acima de 2m/s (Figura 20) (RISKIN & HERMANSON, 2005).

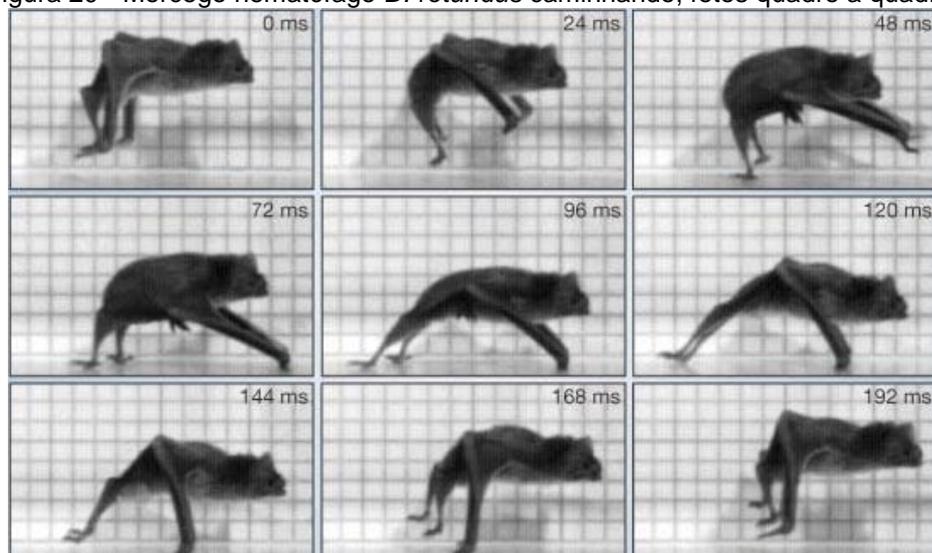
Desmodus rotundus já foram detectados em colônias localizadas em cidades como Cochabamba (SILES, et al., 2005), Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte (UIEDA, 1995), Guarulhos-SP (CHAVES, et al., 2012) Rio de Janeiro-RJ (ESBÉRARD, et al., 2014) e Araras-SP (TEIXEIRA & ROCHA, 2013).

Figura 19 - Distribuição do morcego hematófago *Desmodus rotundus* nas Américas, e as variantes antigênicas presentes.



Fonte: PANAFTOSA/SPV-OPS/OMS, 2022.

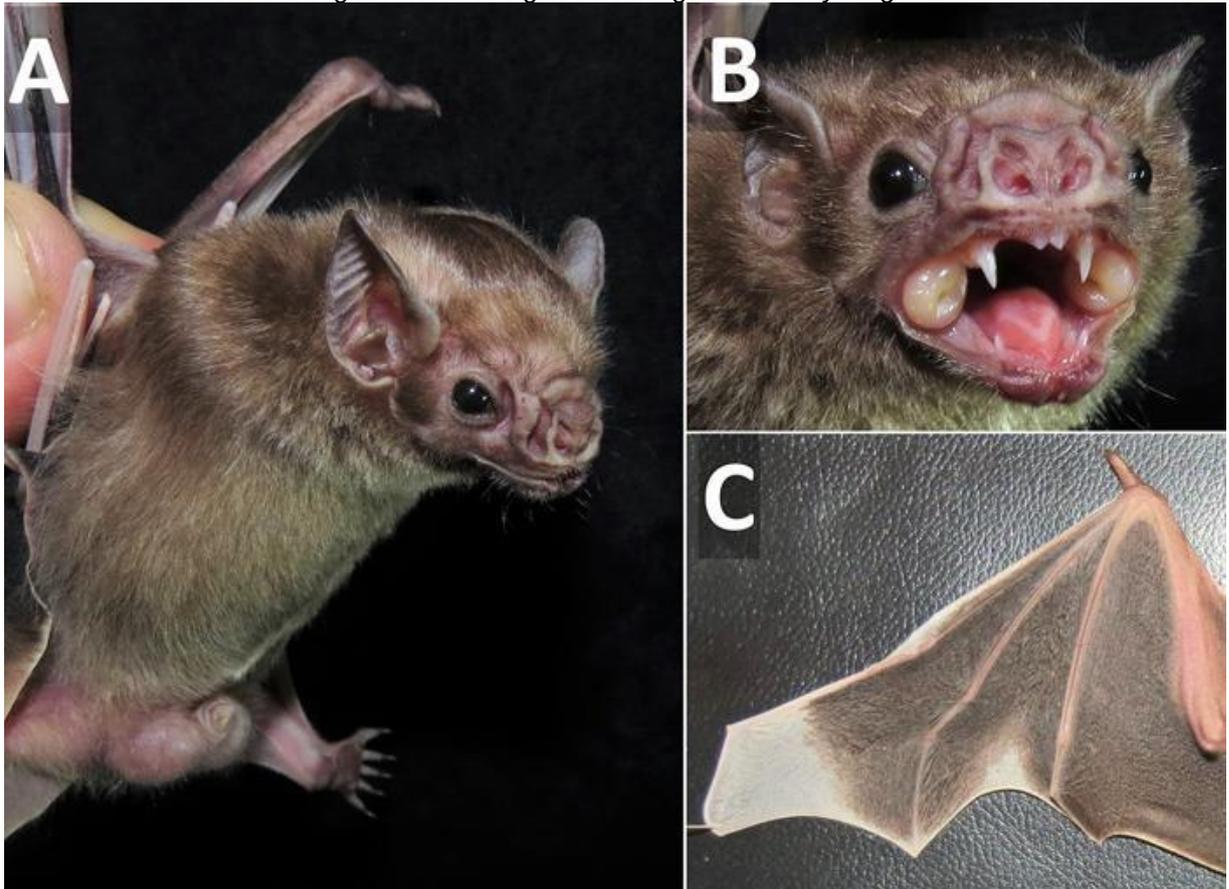
Figura 20 - Morcego hematófago *D. rotundus* caminhando, fotos quadro a quadro.



Fonte: Riskin & Hermanson, 2005.

A espécie *Diaemus youngii*, apesar de ter distribuição semelhante ao *Desmodus rotundus*, é a mais rara das três espécies, é encontrada em 15 dos 26 estados do Brasil, se alimentam de sangue de aves de grande porte (com hábito de empoleirar) e ocasionalmente sangue de mamíferos (Figura 21) (PEDROSO, et al., 2018; REIS, et al., 2017).

Figura 21 - Morcego hematófago *Diaemus youngii*.



(Porto Velho-RO); A- vista do abdômem com observação do saco escrotal e prepúcio. B-Glândula na parte interna da bochecha; C- Ponta da asa branca. Fonte: Pedroso, et al., 2018.

Na literatura há poucos dados referente à biologia, ecologia e à população (REIS, et al., 2007). Esta espécie é bastante parecida com o *D. rotundus*, porém possui características patognomônicas para a espécie. As pontas das asas são brancas, bem como parte da membrana entre o segundo e o terceiro dedo, e uma glândula bilateral na parte interna da boca, que emite odor característico quando o animal é incomodado (REIS, et al., 2007). Habitam geralmente cavernas e ocos de árvores, podendo dividir estes locais com outras espécies de morcegos (REIS, et al., 2007).

Outra característica que pode diferenciar as três espécies é o número de dentes (Tabela 03), *D. youngii* possui 22 dentes, *D. rotundus* 20 e *D. ecaudata* 26 dentes (REIS, et al., 2007).

Tabela 03 - Fórmula dentária dos morcegos hematófagos.

Espécies	Fórmula
<i>Desmodus rotundus</i>	i1/2; c1/1; pm1/2; m1/1 → total 20 dentes
<i>Diaemus youngii</i>	i1/2; c1/1; pm1/2; m2/1 → total 22 dentes
<i>Diphylla ecaudata</i>	i2/2; c1/1; pm1/2; m2/2 → total 26 dentes

i-incisivos; c-caninos; pm-pré molares; m-molares. Fonte: Reis, et al., 2007.

Diphylla ecaudata (Figura 22) é encontrada em 16 dos 26 Estados brasileiros, se alimenta preferencialmente de sangue de aves, ocasionalmente sangue de bovinos (REIS, et al., 2017), e na ausência destes de sangue humano, que foi detectado em estudo realizado por Ito e colaboradores (2016), no qual o DNA humano foi detectado nas fezes desta espécie. É a menor das três espécies, e a segunda mais encontrada (REIS, et al., 2007).

Figura 22 - Morcego hematófago da espécie *Diphylla ecaudata*.



A-Pernas recobertas por pelos ; B-Vista dorsal; C-Vista facial. Fonte: Santos & Lopes, 2015.

As características que podem diferenciá-la das outras duas espécies são suas orelhas pequenas e redondas, olhos grandes, polegares sem calosidades. A pelagem é densa e está presente nos antebraços, pernas e uropatágio, de cor marrom claro na região ventral e escuro na região dorsal. Os dentes incisivos externos são patognomônicos da espécie, são amplos, em forma de leque e com 7 lóbulos (REIS, et al., 2017).

2.9.2.1 Saliva - Substâncias anticoagulantes e vasodilatador

Coagulação sanguínea, vasoconstrição e a agregação plaquetária são os mecanismos que os vertebrados utilizam para evitar a perda sanguínea após uma lesão. A saliva dos animais hematófagos possuem substâncias que conseguem driblar estes mecanismos e manter o sangue líquido para ser digerido. A saliva do morcego *Desmodus rotundus* possui uma proteína chamada Draculina, que inibe os fatores da cascata da coagulação IXa e Xa, que inibe a conversão da protrombina em trombina, isso impede que o fibrinogênio seja convertido em fibrina garantindo a fluidez do sangue enquanto se alimenta (FERNANDEZ, et al., 1999; KAKUMANU, et al., 2019).

O ativador do plasminogênio salivar do *Desmodus rotundus* (DSPA), também compõe a saliva dos morcegos hematófagos e atuam no rompimento da malha de fibrina dos coágulos (HACKE, et al., 2005). Está presente também na saliva dos MH *Desmodus rotundus* o peptídeo vCGRP que é semelhante à calcitonina humana que é um vasodilatador pujante que atua através da ativação dos canais de potássio (K⁺) independente do endotélio ativando os receptores CGRP1. Por ser semelhante ao CGRP humano esta substância tem potencial para novas aplicações na farmacologia de enfermidades cardiovasculares (KAKUMANU, et al., 2019).

2.9.3 Relação vírus x morcego

Embora seja um importante componente da fauna, os morcegos têm sido associados como hospedeiros de diversas doenças em animais e humanos. Estudos recentes revelam que os morcegos tem enorme contribuição no grande número de enfermidades emergentes no planeta (O'SHEA, et al., 2014; SMITH & WANG, 2013).

Atualmente foram identificados, pelo DBatVir (CHEN, et al., 2014), no mundo 15.612 vírus relacionados a 362 espécies de morcegos, sendo que no Brasil há 672 vírus (DBatVir, 2022).

Vírus identificados em morcegos hematófagos são 313, somente no *Desmodus rotundus* são 274 (DBatVir, 2022). A relação zoonose versus morcegos mais antiga conhecida é a raiva versus morcego, e o morcego hematófago, cujo hábito alimentar evoluiu somente nas Américas, favorece grandemente a transmissão do vírus rábico (JOHNSON, et al., 2014; WILLE, 2020).

Muitas suposições são feitas a respeito da origem da raiva nas Américas, alguns estudiosos dizem que foi trazida nos navios com os colonizadores (FLORES-CRESPO, 1998), porém análises filogenéticas realizadas por Davis e colaboradores (2006) não descartam a existência do RABV em morcegos nas Américas antes da colonização. O que se sabe realmente é que ela está presente e causa danos cada vez maiores, tanto em saúde pública quanto na sanidade animal onde os prejuízos são elevados, na casa de milhões de dólares, e levam em consideração vários fatores (FLORES-CRESPO, 1998; HEINEMANN, et al., 2002; KOTAIT, et al., 1998; MELLO, et al., 2019; TEIXEIRA, et al., 2015).

Quando ocorre a raiva em humanos, o cão será lembrado como maior responsável pela transmissão, porém os morcegos, principalmente os hematófagos, tiveram seus números aumentados com importância considerável (BABBONI & MODOLO, 2011; BATISTA, et al., 2007; DUARTE, et al., 2020).

Nos animais, principalmente os de produção, a enfermidade ganhou espaço com a introdução da pecuária, e os mecanismos utilizados para que este ramo da economia se desenvolvesse cada vez mais, desde o descobrimento até os dias de hoje. Vários fatores contribuíram e ainda contribuem para que esta enfermidade se mantenha circulante na natureza, entre eles: a transformação dos campos nativos em áreas de pastagens; a ampliação destas áreas com o desmatamento, isso auxiliou na diminuição da área natural dos animais silvestres; a introdução de grandes animais muito próximos às matas, servindo como alimento fácil e constante; o aumento das construções realizadas pelo homem, desde infraestruturas rodoviárias (pontes, tuneis, bueiros) e edificações urbanas servindo como abrigos artificiais para morcegos (BRASIL, 2009; FLORES-CRESPO, 1998).

As hidroelétricas, sejam elas pequenas, médias ou grandes, colaboram com o deslocamento destes animais de seus abrigos naturais, quando da formação de seus

lagos, e também servem de novos abrigos, tanto em hidroelétricas ativas, quanto obras inacabadas, abandonadas e sem manutenção (BRASIL, 2009; FLORES-CRESPO, 1998).

2.10 Defesa sanitária

A Defesa Agropecuária Estadual, é executada pelo Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso – INDEA/MT, através de programas sanitários. Este órgão atua em várias áreas nos limites do território estadual, opera no controle do trânsito de animais, seus produtos e subprodutos; na inspeção de produtos de origem animal. Atua na fiscalização de eventos agropecuários; no cadastro e fiscalização nos estabelecimentos que comercializam fármacos, biológicos, aves vivas e alimentos para animais de produção, e também na rastreabilidade animal. Realiza educação sanitária nos assuntos pertinentes à defesa agropecuária. Executa as diretrizes dos programas sanitários para as enfermidades de notificação obrigatória, as endêmicas, as erradicadas e as exóticas, promovendo a detecção precoce, a prevenção da entrada e a disseminação de enfermidades animais no estado de Mato Grosso (INDEA, 2022).

2.10.1 Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros

Entre os programas sanitários está o Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros (PECRH), que deriva da sua versão federal o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH). O PECRH além de agir na prevenção e no controle desta enfermidade, atua na prevenção e detecção precoce de outras duas enfermidades de sintomatologia nervosa, a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) e o *Scrapie* (INDEA, 2022).

Várias são as atividades finalísticas do PECRH, como a prevenção da EEB através da coleta de amostras e realização de teste rápido em rações preparadas nas propriedades e fiscalizações em revendas. Realiza cadastramento de abrigos de morcegos hematófagos, monitoramento anual destes abrigos, além de atendimento à notificações de animais com sintomatologia nervosa, com coleta e remessa de

amostras para o laboratório da instituição (LASA), incluindo atendimentos em focos e perifocos de raiva, com o acompanhamento de vacinações compulsórias. Outra atividade executada é a captura de morcegos, com a identificação do morcego hematófago da espécie *Desmodus rotundus*, e o tratamento do mesmo com pasta vampiricida, sempre após a notificação proveniente do produtor rural e também através da vigilância ativa em propriedades e abrigos (INDEA, 2022).

2.10.2 Capturas de morcegos

As capturas de morcegos são realizadas por equipes treinadas, com experiência na execução da atividade, previamente imunizadas contra a raiva, com titulação acima de 0,5UI/mL, e todo equipamento necessário para a execução da atividade (Tabela 04). As capturas podem ser realizadas em fontes de alimentação ou em abrigos. As fontes de alimentação são currais, baias, bezerreiros, capris, apriscos, pocilgas em galinheiros ou poleiros de aves. Os abrigos são na maioria das vezes cavernas, ocos de árvores, casas abandonadas, poços, fossas, minas, buracos de garimpo, pontes e bueiros (INDEA, 2022).

A atividade de captura é agendada após a busca realizada de forma ativa e/ou informação recebida de forma passiva. Aproveitando as visitas às propriedades, para executar outras atividades, para observar espoliação nos animais, e verificar animais com sinais nervosos, indagando aos proprietários sobre abrigos de morcegos e animais doentes, são algumas das ações da vigilância ativa. Receber e atender as notificações provenientes do produtor rural ou de terceiros, de agressões por morcegos nos animais e as notificações de enfermidades são algumas das ações da vigilância passiva.

Os animais anteriormente atacados pelos morcegos servem de chamariz para o dia da captura, e as redes são armadas ao redor dos locais onde estes animais costumam passar as noites, e onde estão sendo agredidos pelos morcegos (INDEA, 2022). Em cavernas ou outros abrigos geralmente se armam as redes nas saídas destes locais, nos horários adequados, pois, as cavernas podem abrigar várias

espécies de morcegos, e cada espécie tem seus hábitos e horários para saírem dos abrigos para a alimentação (REIS, et al., 2007; INDEA, 2022).

2.11 Biomas

O Brasil possui 6 biomas diferentes: Amazônico, Cerrado, Pantanal, Mata Atlântica, Caatinga e os Pampas (IBGE, 2022) (Figura 23).

O Estado de Mato Grosso conta com uma área territorial de 903.207,047 km² (IBGE, 2022), uma população bovínica de 31.989.823 cabeças (INDEA, 2021).

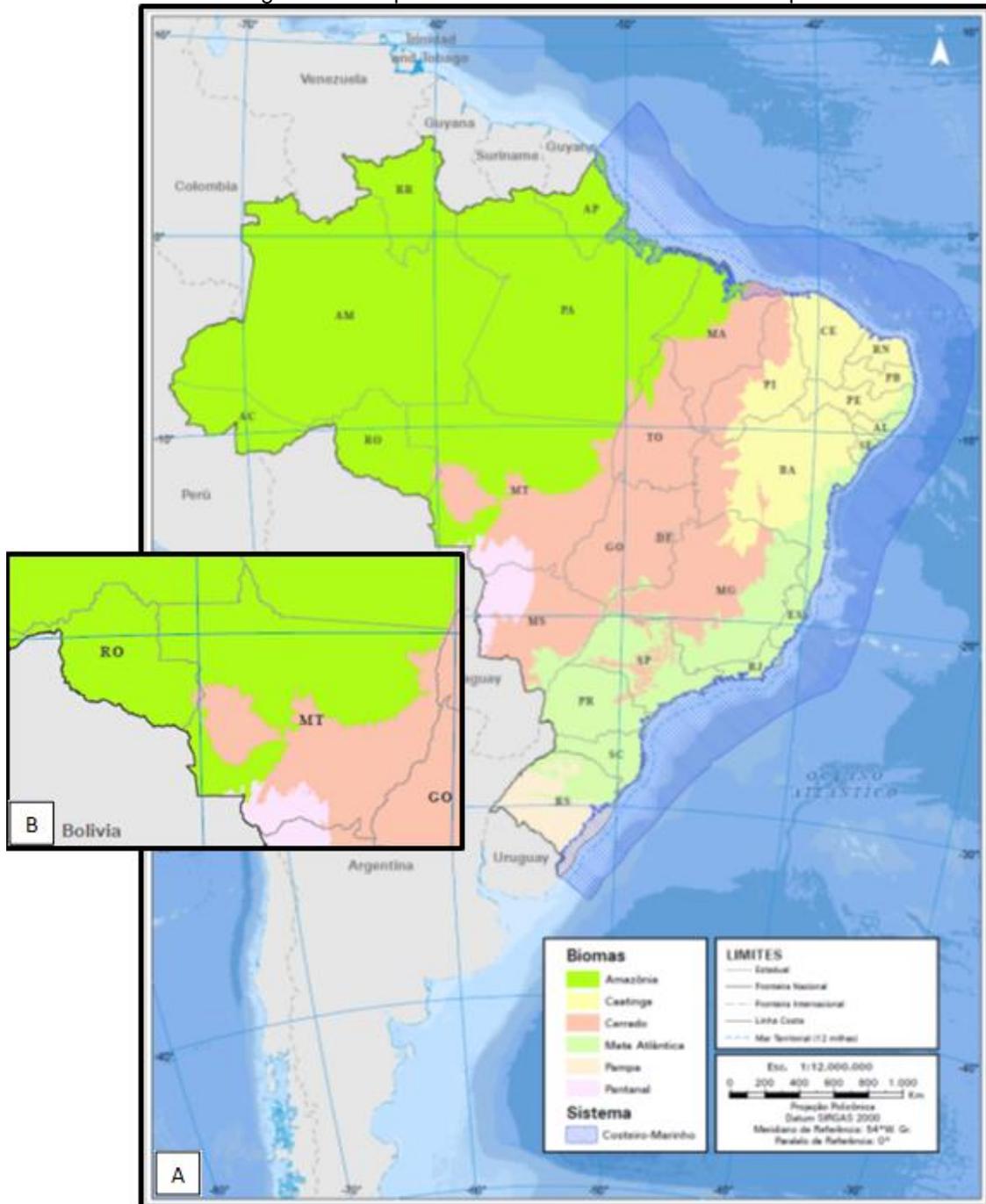
Tabela 04 - Equipamentos básicos para equipes* de captura de morcegos hematófagos.

	Materiais	Quantidade
1	Rede de nylon tipo Mist Nets (7, 9 e 12 metros de comprimento)	**5 de cada
2	Haste para fixação de redes (canos de alumínio, pvc, etc.)	**15
3	Capacete com lanterna	2
4	Anticoagulante (Warfarina)	**10
5	Macacão	2
6	Mochila grande de material impermeável	2
7	Gaiola retrátil tipo viveiro de peixe número	2
8	Puçá fundo (aprox. 1 metro de profundidade)	2
9	Luva de raspa cano longo	5 pares
10	Garrafa Térmica 5 litros	1
11	Corda de Nylon tipo alpinista (50 metros)	1
12	Óculos de proteção	2
13	Lanterna de mão resistente (mínimo três pilhas)	2
14	Cantil	2
15	Capa de impermeável e par de botas de cano longo	5
16	Machadinha	1
17	Facão com bainha	2
18	Maleta de primeiros socorros em caixa plástica	1
19	Aparelho para comunicação, tipo walk talk	2
20	Linha de costura de nylon fino preto	1
21	Máscara contra pó, com filtro de carvão ativado	2
22	Saco de pano de 20x30 cm, com cordão para fechamento	5
23	Faca campanha	1
24	Aparelho GPS	1
25	Lampião a gás	1
26	Fixador de hastes	**60
27	Cinta de segurança	2
28	Balde de 18l	1
29	Caixa de isopor	2
30	Material de desinfecção-álcool iodado, sabão em barra, sol. formol 10%	1
31	Barbante de algodão – rolo para fixar as hastes	1
32	Caixa de necropsia (completa)	1
33	Recipiente p/ colheita de amostras (saco plástico, cx. de isopor, vidro)	1
34	Prancheta para anotações e respectivo material	2

* Equipe composta por 2 pessoas. ** A quantidade de redes, hastes, fixador de hastes e anticoagulantes depende das áreas que serão trabalhadas. Fonte: Adaptado de Brasil, 2009

A caixa d'água do Brasil, assim Mato Grosso é considerado, devido ao grande número de nascentes, rios e aquíferos. Possui três grandes bacias hidrográficas, a Platina, a Amazônica e a do Tocantins. Estas duas últimas tem suas nascentes no território matogrossense. As bacias são subdivididas em cinco sub-bacias: a do Guaporé, a de Aripuanã, a do Juruena-Arinos, a do Xingu e a do Teles Pires (MT, 2022).

Figura 23 - Mapa do Brasil mostrando os biomas do país.



Seis biomas do Brasil. B - Os biomas no Estado de Mato Grosso, representados pelas cores: Verde - Amazônico; Rosa - Cerrado; Branco - Pantanal. Fonte: IBGE/2019.

O relevo é bastante diversificado, contando com planícies pantanosas, planaltos, chapadas e depressões (IBGE, 2019). Pouco acidentado com altitudes médias entre 400 a 800 metros (EMBRAPA, 2022; MT, 2022). É o único estado que possui a combinação dos biomas amazônico, cerrado e pantanal (IBGE, 2019) que abrangem 53%, 40% e 7% do território matogrossense, respectivamente (MMA/IBAMA, 2011).

A vegetação do estado está dividida em três regiões: a norte, a central e a sul, cada região com suas características. A região norte está compostas por florestas ombrófila densa tropical, floresta ombrófila aberta tropical, floresta estacional decidual e cerrado. A central possui a mesma vegetação da região norte acrescentada da floresta estacional semidecidual. A região sul está composta por cerrado, floresta estacional decidual e semidecidual, além da savana estépica (EMBRAPA, 2022; MT, 2022).

Os biomas do estado abrigam diferentes tipos de vegetação, e estas são componentes importantes para manutenção dos habitats das espécies animais e fornecimento de bens essenciais à sobrevivência humana (MT, 2022).

2.11.1 Bioma Amazônico

Presente em 9 países da América Latina, este é o maior bioma do Brasil, com aproximadamente 4.212.472 km² (IBGE, 2019), ocupa cerca de 49,5 % do território nacional, muito importante para o país, pois sequestra 70 bilhões de toneladas de carbono, abriga alta diversidade de flora e fauna, e inúmeros recursos naturais. De um total de 120 mil espécies animais existentes no Brasil, possui 73% das espécies de mamíferos e 80% das espécies de aves. Além de possuir grande quantidade de madeira, borracha, castanhas, minérios e peixes (MMA/IBAMA, 2011).

2.11.2 Bioma Cerrado

Fazendo parte de todas as regiões do país, este bioma cobre 23,3% do território nacional, com 2.000.000 km² de área, de 300 a 1600 m de altitude (BACARDJI, et al., 2021; IBGE, 2022), possui as nascentes de três bacias hidrográficas com enorme potencial aquífero. Tem sofrido perdas de biodiversidade devido as atividades agropecuárias (MMA, 2022). Este bioma ocupa cerca de 40% do território do estado

de Mato Grosso, abrigando várias espécies da flora e fauna brasileiras (BACARDJI, et al., 2021).

2.11.3 Bioma Pantanal

Reconhecido pela UNESCO como Reserva da Biosfera e Patrimônio Natural da Humanidade (BACARDJI, et al., 2021), o Pantanal é o bioma que ocupa 1,8% do território nacional (MMA, 2022), é a maior planície inundável do planeta (BACARDJI, et al., 2021; MMA, 2007; MMA, 2022). Ocupa cerca de 7% do território do estado de Mato Grosso (BACARDJI, et al., 2021) e possui quase todas as espécies animais da fauna brasileira (MMA, 2022). Um dos biomas mais ameaçados pelas modernas atividades econômicas (MMA, 2007).

Estas características de vegetação, relevo e hidrografia presentes no estado de Mato Grosso colaboram com a dispersão e manutenção das colônias de morcegos bem como a segregação das variantes do vírus rábico (CONDORI-CONDORI, et al., 2013; KANITZ, et al., 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo realizar genotipificação do vírus da raiva de amostras sabidamente positivas, e a identificação de morcego hematófago capturado em Mato Grosso sem registro científico no estado.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar o vírus da raiva em amostras submetidas ao LASA;
- Genotipificar amostras positivas do vírus da Raiva em animais para análise de distribuição dos genótipos nos diferentes biomas do Estado de MT;
- Análise e interpretação dos dados obtidos para promover ações de medidas de controle para Defesa Sanitária;

- Identificar espécie de morcego hematófago capturada em Mato Grosso sem registro científico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras positivas

Foi realizado a coleta de fragmentos tecido nervoso de 348 amostras, positivas para raiva pela IFD, do banco de amostras do Laboratório de Apoio à Saúde Animal do Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso – INDEA/MT, do período de 2010 a 2021. A análise foi realizada em 117 amostras de várias espécies animais que foram separadas por bioma e sorteadas de forma aleatória.

As amostras foram manipuladas em cabine de segurança biológica (BIOSEG 12 tipo A1-VECO®). Todos os instrumentos utilizados e as amostras foram submetidos a 20 minutos na luz Ultra Violeta. A profissional envolvida na manipulação do material contaminado utilizou EPI em todas as etapas, até o final da extração do material genético.

4.1.1 Extração do material genético

Os ácidos nucleicos foram extraídos com o protocolo fenol-clorofórmio segundo Sambrook & Russell (2001). A quantidade de 0,125g das amostras foram colocadas em microtubos de 2mL com 1mL de tampão de lise (SAMBROOK & RUSSELL, 2001), selados com parafilme, em seguida submetidas ao vortex, por um minuto, e aquecidos no Thermo-Shaker à 100°C com agitação, para inativação do vírus, por 10 minutos. Após este processo as amostras seguiram para o banho Maria à 56°C por 24 horas. Transcorrido o tempo, as amostras foram submetidas ao vortex, e foi acrescentado a cada amostra 400µL de fenol, agitadas no vortex e centrifugadas à 12.000g por 5 minutos. O sobrenadante foi retirado e colocado em novo microtubo (2 mL), onde foi acrescentado a cada amostra 200µL de clorofórmio e 200µL de fenol, agitadas no vortex e centrifugadas à 12.000g por 5 minutos. Reitrado o sobrenadante novamente e colocado em outro microtubo (1,5 mL). Nesta etapa foi acrescentado 6% do volume da amostra de acetato de sódio, e 106% do volume da amostra de isopropanol e centrifugado por 5 minutos à 12.000g. Foi desprezado o sobrenadante e acrescentado

1mL de etanol 70%, este procedimento foi realizado por duas vezes, as amostras foram deixadas para secar e em seguida eluídas em 50µL de tampão de eluição.

4.1.2 Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase

A Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) foi realizada com os oligonucleotídeos P510 – 5' ATAGAGCAGATTTTCGAGACAGC 3' e P784 – 5' CCTCAAAGTTCTTGTGGAAGA 3' – 295pb, para amplificar um fragmento do gene N (SOARES, et al., 2002). A técnica foi realizada com: 2,5µL de água; 4,0µL de Tampão 5x Invitrogen®; 2,0µL de DTT Invitrogen® (0,1mM); 1,0µL de dNTPs Easy Path (10mM) e 0,5µL de M-MLV Invitrogen® (200U/µL). A reação foi incubada a 42°C/30min; 95°C/5min (01 ciclo). Em seguida a PCR foi executada com: 17,8µL de água; 3,75µL de tampão 10x Sigma®; 1,5µL de MgSO₄ Invitrogen®; 0,5µL de dNTPs Easy Path; 0,25µL de Taq Sigma®; 0,2µL de Primer e 1µL de RNA (amostra) – Diluída 1/20, submetidas às Temperaturas/tempos: 94°C/3min (01 ciclo); 94°C/45 seg, 54°C/1min, 72°C/30 seg (35 ciclos); 72°C/10 min (01 ciclo). Os resultados foram corados com Gel Red Biotium®, e visualizados em cuba de eletroforese, com gel de agarose a 1,5% em TEB.

4.1.3 Purificação e sequenciamento

Os amplicons foram purificados com Agencourt® AMPure® XP – Beckman Coulter, conforme instruções do fabricante. O sequenciamento foi realizado em sequenciador automático ABI3500 (Applied Biosystems®), usando o kit BigDye (Applied Biosystems), conforme instruções do fabricante. As sequências obtidas foram confrontadas com o banco de dados de DNA/RNA utilizando o algoritmo BLAST a partir do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>) para determinação/confirmação da espécie. As sequências obtidas foram revisadas manualmente com o auxílio dos programas CLC DNA Workbench 6.0 e Sequencing Analysis V5.4. O Alinhamento foi executado no programa CLUSTAL W e as Análises filogenéticas e evolutivas moleculares foram conduzidas usando Máxima Verossimilhança. Algumas sequências provenientes de outros estudos que estão depositadas no Genbank foram

utilizadas nas análises filogenéticas para comparação, bem como o RABV (Material suplementar).

4.1.4 Árvore filogenética

Para a construção da árvore filogenética as sequências foram alinhadas com MUSCLE (v3.8.31) configurado para maior precisão (MUSCLE com configurações padrão). Em seguida, as regiões ambíguas foram removidas com Gblocks (v0.91b). A árvore filogenética foi reconstruída usando o método de máxima verossimilhança implementado no programa PhyML (v3.1/3.0 aLRT). O modelo de substituição padrão foi selecionado assumindo uma proporção estimada de sites invariantes (de 0,431) e 4 categorias de taxa distribuída gama para levar em conta a heterogeneidade da taxa entre os sites. O parâmetro de forma gama foi estimado diretamente dos dados (gama=0,717). A confiabilidade da ramificação interna foi avaliada pelo método bootstrap (1000 réplicas de bootstrap). A representação gráfica e edição da árvore filogenética foi realizada com TreeDyn (v198.3). A análise foi realizada na plataforma Phylogeny.fr (<http://www.phylogeny.fr/>).

4.2 Captura de morcegos

Para a captura dos morcegos foram utilizadas redes de neblina de 7m x 2,5m; 9m x 2,5m e 12m x 2,5m, com a malha de 20mm, hastes de PVC e fixadores de hastes, pinças anatômicas, luvas de raspa, gaiolas retráteis, macacão, lanternas de mão e de cabeça, barbante, GPS, e outros materiais conforme tabela 03 (Figura 24).

4.2.1 Captura 1

A captura foi agendada após a notificação do produtor rural que reclamara de sugadura em bovinos, equinos, aves e suínos. A atividade foi realizada no dia 16/12/2015, pela equipe de captura da Unidade Regional de Supervisão de Alta Floresta que estava composta por uma fiscal médica veterinária e um agente fiscal I. Os fiscais compareceram na propriedade "A" do município de Paranaíta-MT (9° 31' 22" S / 056° 42' 18" W) para atender a notificação do proprietário (Figura 25).

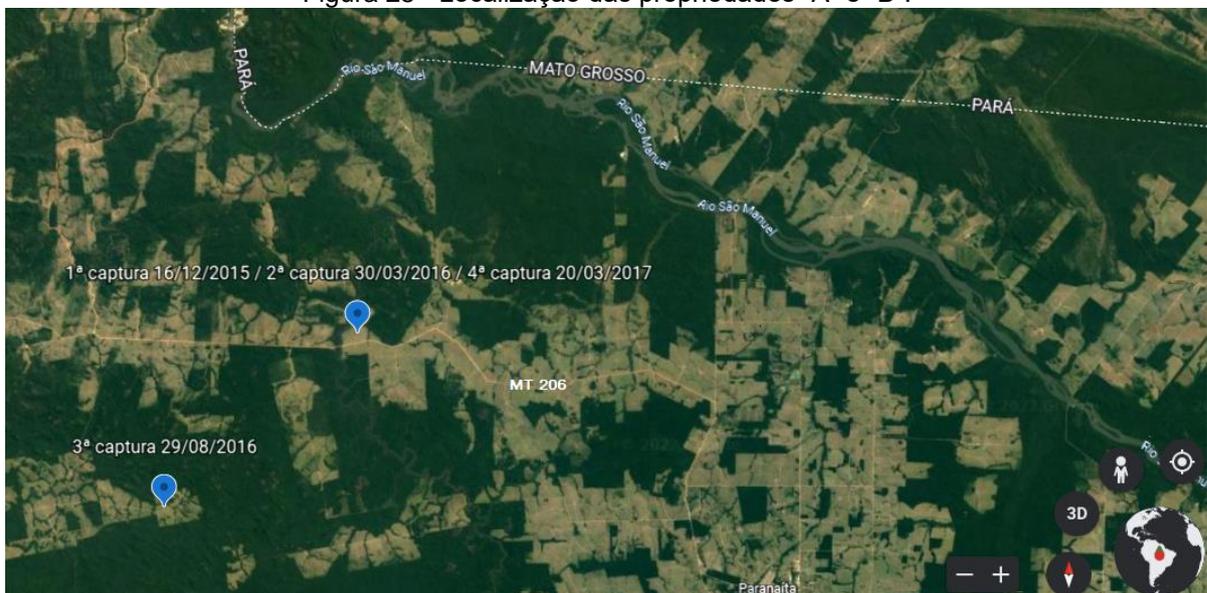
Figura 24 - Materiais para captura de morcegos e redes armadas em fonte de alimentação.



A- Hastes de PVC para armar as redes e fixador das hastes; B- Luvas de raspa cano longo; C- Pasta vampiricida; D- Redes de neblina; E- Rede armada ao redor de poleiro de aves; F- Rede armada ao redor de curral. Fonte: Arquivo INDEA.

Os bovinos e equinos estavam em pastos longe da sede da propriedade, e onde estavam não havia curral ou outra instalação que permitia a montagem das redes, então a captura ficou restrita onde as outras espécies estavam alojadas. Os suínos estavam abrigados em uma pocilga, e as aves dormiam empoleiradas nas árvores ao redor da casa. Foram armadas 8 redes no total, duas ao redor da pocilga e as demais entre as árvores. As redes foram abaixadas após o escurecer, por volta das 19:30h, e a cada 15 minutos as mesmas eram vistoriadas com o objetivo de retirar os morcegos que por ventura estivessem presos nas mesmas. Os animais que caíam nas redes eram retirados com cuidado e colocados em uma gaiola retrátil.

Figura 25 - Localização das propriedades “A” e “B”.



Propriedade “A” três capturas, propriedade “B” uma captura.

<https://earth.google.com/web/@-9.49928042,-56.68297655,303.42796868a,51896.0348808d,35y,359.99993445h,0t,0r>

4.2.2 Captura 2

Na mesma propriedade “A”, no dia 30/03/2016 foi realizada nova captura devido a notificação de sugadura em bovinos, equinos, suínos e aves. Novamente não foi possível prender os bovinos e equinos. Então a captura foi realizada no mesmo local da anterior. Foram armadas 7 redes, ao redor da pocilga e entre as árvores que foram baixadas por volta das 19:00. A cada 15 minutos as redes eram vistoriadas para retirada de morcegos que estivesse enroscado. A captura foi encerrada por volta das 23:00h.

4.2.3 Captura 3

Realizada na propriedade “B” (9° 37’ 16,3” S / 056° 48’ 57,7” W), no dia 29/08/2016 (Figura 25). O proprietário notificou sugaduras em bovinos e aves. As redes foram armadas ao redor do curral e onde as aves dormiam. Foram utilizadas 9 redes, quatro no curral e 5 ao redor das árvores onde as aves empoleiravam. As redes foram baixadas às 19:00, e levantadas por volta das 03:00h do dia seguinte.

4.2.4 Captura 4

No dia 20/03/2017, um ano após a segunda captura, foi executada outra na propriedade “A”, devido a notificação de sugaduras em aves. Mesmo sem agressões aos suínos, as redes foram montadas ao redor das pocilgas e entre as árvores onde as aves empoleiravam. Utilizamos 8 redes nesta atividade. A captura iniciou por volta das 19:00 e foi encerrada às 23:00h.

5 RESULTADOS

Os resultados deste estudo serão mostrados através do artigo publicado, do artigo submetido e dos materiais complementares (Apêndices).

6 APÊNDICES

APÊNDICE A – Genotyping of rabies positive samples isolated from animals in Mato Grosso and Rondônia – Brazil

The screenshot shows the journal's homepage. The journal title is 'Infection, Genetics and Evolution', with the subtitle 'Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases (MEEGID)'. The ISSN is 1567-1348. A callout box highlights the journal's Impact Factor of 4.393, ranking it 47 out of 94 in Infectious Diseases. The page also features a 'submit your paper' button and a 'View articles' button. The bottom of the page lists the Co-Editors-in-Chief: Fernando González-Candelas, PhD and Manuela Sironi, Ph.D.

Periódicos

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	BIODIVERSIDADE	B1
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	BIOTECNOLOGIA	B1
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO	B2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	CIÊNCIAS AGRÁRIAS I	A1
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS I	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS II	B1
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS III	B1
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	ENFERMAGEM	A1
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	ENSINO	B2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	FARMÁCIA	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	INTERDISCIPLINAR	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	MEDICINA I	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	MEDICINA II	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	MEDICINA III	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	MEDICINA VETERINÁRIA	A2
1567-1348	INFECTION, GENETICS AND EVOLUTION (PRINT)	SAÚDE COLETIVA	A2

1 a 16 de 16 registro(s)



Contorno Figuras (2) 1 / 4

Infection, Genetics and Evolution 103 (2022) 105326

Contents lists available at ScienceDirect

Infection, Genetics and Evolution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meegid

Short communication

Genotyping of rabies positive samples isolated from animals in Mato Grosso and Rondônia – Brazil

Maria Fernanda Aranega Pimentel^{a,b}, Selma Maria Nassarden^b, Stéfano Luís Cândido^a, Valéria Dutra^{a,c}, Luciano Nakazato^a

^a Postgraduate Program in Veterinary Sciences, Federal University of Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corvia da Costa, n° 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT 78060-900, Brazil

^b Institute of Agricultural Defense of the State of Mato Grosso, Rua Eng. Edgar Prado Azeiteiro, n° 1, Quadra 1, Saneamento - Centro Político-Administrativo, Cuiabá, MT 78049-910, Brazil

^c Laboratory of Veterinary Microbiology and Molecular Biology, UFMT, Av. Fernando Corvia da Costa, n° 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT 78060-900, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Rabies
Lyssavirus
Genotyping
Mato Grosso
RT-PCR

ABSTRACT

Lyssavirus is a genus that causes infectious disease transmit by bats transmit, which results in economic losses in livestock and public health problems. From 2005 to 2019, more than 49 thousand cases of the disease were registered in animals in Brazil, with 3418 registered in Mato Grosso (MT). The lack of information on the genetic diversity and distribution of the rabies virus in MT was the motivation for carrying out this study. A total of 117 samples of brain tissue from cattle, horses, donkeys, mules and sheep from 29 municipalities in the state of MT and one municipality in Rondônia were used. Direct immunofluorescence and/or biological tests performed from 2014 to 2021 indicated that all samples were positive for the disease. RNA was extracted and molecular analysis was performed using RT-PCR for the N gene. Of the 117 samples analysed, 50 were amplified by RT-PCR, purified and sequenced. The samples showed 93.13%–100% identity with the rabies virus. The sequences were submitted to phylogenetic analysis that resulted in a tree of four clades; these were genetically grouped into distinct regions within the *Desmodus rotundus* lineage. The results of the geolocation of clades will be useful to guide monitoring, control and health surveillance programs in MT.

FEEDBACK

25°C 10:44
PTB2 08/08/2022

ABSTRACT

Lyssavirus is a genus that causes infectious disease transmit by bats transmit, which results in economic losses in livestock and public health problems. From 2005 to 2019, more than 49 thousand cases of the disease were registered in animals in Brazil, with 3418 registered in Mato Grosso (MT). The lack of information on the genetic diversity and distribution of the rabies virus in MT was the motivation for carrying out this study. A total of 117 samples of brain tissue from cattle, horses, donkeys, mules and sheep from 29 municipalities in the state of MT and one municipality in Rondônia were used. Direct immunofluorescence and/or biological tests performed from 2014 to 2021 indicated that all samples were positive for the disease. RNA was extracted and molecular analysis was performed using RT-PCR for the N gene. Of the 117 samples analyzed, 50 were amplified by RT-PCR, purified and sequenced. The samples showed 93.13%–100% identity with the rabies virus. The sequences were submitted to phylogenetic analysis that resulted in a tree of four clades; these were genetically grouped into distinct regions within the *Desmodus rotundus* lineage. The results of the geolocation of clades will be useful to guide monitoring, control and health surveillance programs in MT.

INDEX TERMS: Rabies, Lyssavirus, genotyping, Mato Grosso, RT-PCR.

RESUMO

Lyssavirus é um gênero que causa doenças infecciosas transmitidas por morcegos, o que resulta em perdas econômicas em pecuária e problemas de saúde pública. De 2005 a 2019, mais de 49 mil casos da doença foram registrados em animais no Brasil, sendo 3.418 registrados em Mato Grosso (MT). A falta de informações sobre a genética, a diversidade e distribuição do vírus da raiva no MT foi a motivação para a realização deste estudo. Um total de 117 amostras de tecido cerebral de bovinos, equinos, burros, muares e ovinos de 29 municípios do estado de MT e um município de Rondônia foram utilizadas. Imunofluorescência direta e/ou testes biológicos realizados a partir de 2014 a 2021 indicaram que todas as amostras foram positivas para a doença. O RNA foi extraído e a análise molecular foi realizado usando RT-PCR para o gene N. Das 117 amostras analisadas, 50 foram amplificadas por RT-PCR, purificadas e sequenciadas. As amostras apresentaram 93,13%–100% de identidade com o vírus da raiva. As sequências foram submetidos à análise filogenética que resultou em uma árvore de quatro clados; estes foram geneticamente agrupados em regiões distintas dentro da linhagem *Desmodus rotundus*. Os resultados da geolocalização dos clados serão úteis para orientar programas de monitoramento, controle e vigilância sanitária em MT.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Raiva, Lyssavirus, genotipagem, Mato Grosso, RT-PCR.

1. INTRODUÇÃO

O vírus da raiva (RABV) causa uma das doenças zoonóticas fatais que tem detectados em todo o mundo, exceto na Antártida e na Austrália (OMS, 2018) e matando mais de 59.000 pessoas/ano. (OIE, 2020). De 2005 a 2019, foram registrados 49.562 casos da doença em diversas espécies animais, incluindo 3.418 casos em Mato Grosso (MAPA, 2019). O MT possui três biomas: Cerrado, Amazônia e Pantanal (IBGE, 2019), e mudanças nesses biomas naturais, como aumento do desmatamento, construção de novas usinas hidrelétricas e rodovias, mudanças nesses ecossistemas e, ao mesmo tempo, o deslocamento de morcegos de seu habitat natural (MAPA, 2009; Kanitz et al., 2012). Estudos moleculares e filogenéticos de isolados de RABV são essenciais para entender sua origem e os padrões de disseminação e dispersão de colônias de morcegos hematófagos (MH) (Velasco-Villa et al., 2006; Kobayashi et al., 2008; Almeida et al., 2020). Devido à escassez de dados em MT e Rondônia (RO) e a ocorrência da doença em três diferentes biomas, esta pesquisa teve como objetivo caracterizar isolados locais de RABV por meio da genotipagem e sua disseminação em diferentes biomas através da detecção em tecidos cerebrais de animais.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1. Amostra

Tecido nervoso positivo para raiva de várias espécies foi coletado do Laboratório de Apoio à Saúde Animal (LASA) do Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso (INDEA/MT), e armazenado a -20 °C. As amostras testadas eram de janeiro/2014 a maio/2021 e estavam positivas para RABV via bioensaio em camundongos (Teste Biológico - BP) e imunofluorescência direta (IFD) (OMS, 1996; MS, 2008).

2.2 Análise molecular

O RNA foi extraído de 0,125 g de cada amostra usando o fenolclorofórmio protocolo (Sambrook e Russell, 2001). Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) foram realizados com primers P510 e P784 para amplificar o fragmento do gene N com o protocolo (Soares, et al., 2002). Os amplicons foram purificados e analisados em o sequenciador ABI3500 (Applied Biosystems®) de acordo com as especificações dos fabricantes instruções. As sequências foram revisadas manualmente usando o CLC DNA Workbench e comparado com o banco de dados de DNA/RNA usando o Algoritmo BLAST (NCBI) para determinar a identidade da espécie. O alinhamento foi realizado usando o programa ClustalW, e as análises filogenéticas foram realizado usando a máxima verossimilhança.

3. RESULTADOS

Das 348 amostras positivas pelo IFD, 117 foram escolhidas aleatoriamente, analisados molecularmente e 65,8% (77/117) foram positivos, e 64,93% (50/117) foram sequenciados. Dos 50 sequenciados, 45 são de municípios do MT (29) e 5 de um município do RO (Fig. 1), de três biomas diferentes. Amostras de cinco espécies foram positivas: bovinos (n = 41/82%), cavalos (n = 5/10%), mulas (n = 2/4%), burros (n = 1/2%) e ovelhas (n = 1/2%). A localização dos casos sempre tem pelo menos dois lugares com as seguintes características: rios com matas ciliares, montanhas com cavernas, hidrelétricas usinas elétricas, rodovias (aquedutos e pontes), reservas e áreas preservadas. A análise de comparação do gene RABV N mostrou 93,13-100% e 93,94-98,78% em nucleotídeos e aminoácidos gerados, respectivamente. Na análise filogenética, foram observados quatro clados (Fig. 2), todos com relações identitárias com a linhagem *Desmodus rotundus*. O distribuição dos clados mostrou predominância em C e D, no biomas Cerrado e Amazônia, respectivamente. O clado A foi observado apenas no bioma Pantanal.

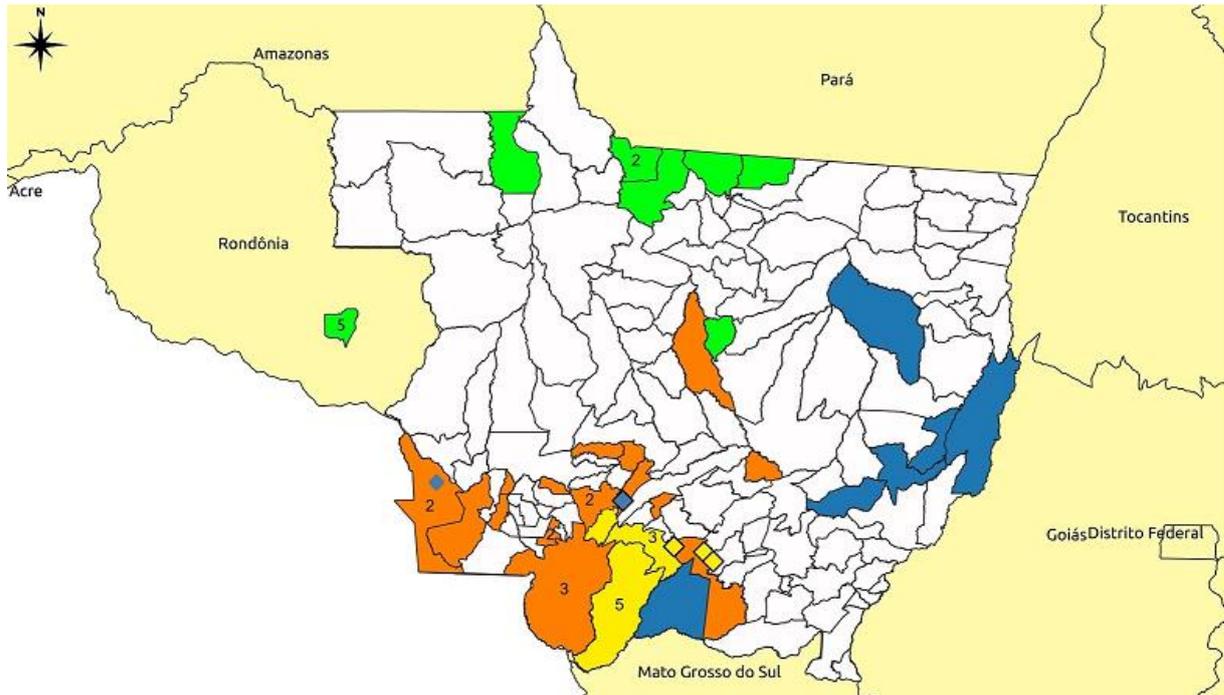


Fig 1. Mapa de MT e RO mostrando os municípios que compõem os clados das sequências deste estudo. Cor Amarela - A; Laranja - B; Azul - C; e Verde -D. Os losangos indicam sequências de outros clados (de acordo com a cor), e os numerais indicam o número de sequências do mesmo clado. (As cores do mapa não estão de acordo com as cores da árvore filogenética, apenas a classificação dos clados.)

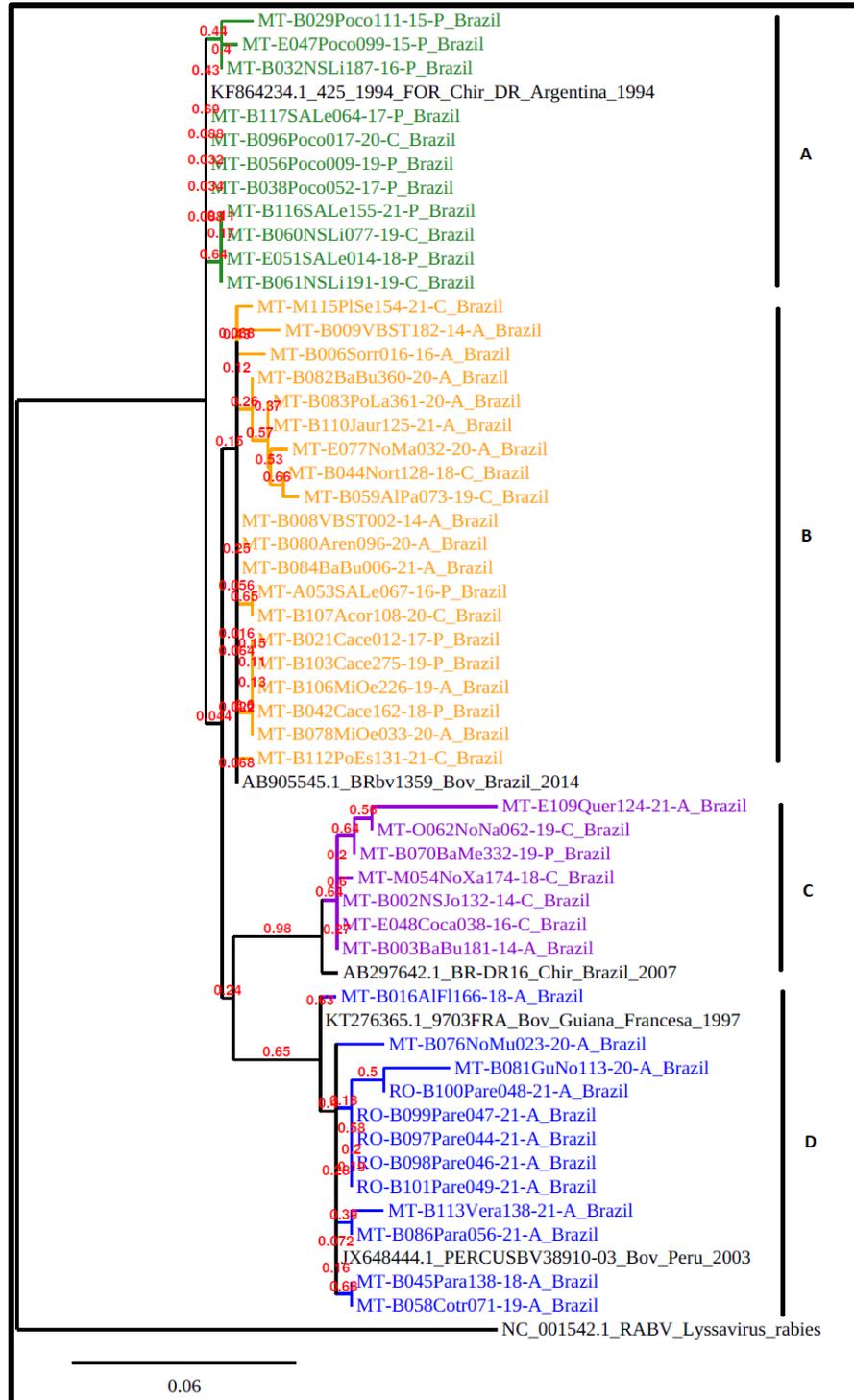


Figura 02. Uma árvore filogenética de distância para uma região de 295 nucleotídeos do gene RABV N. A amostra RABV do GenBank é identificada pelo número de acesso. Esta análise envolveu 56 sequências de nucleotídeos. As sequências foram alinhadas com MUSCLE (v3.8.31) configurado para maior precisão (MUSCLE com configurações padrão). Em seguida, as regiões ambíguas foram removidas com Gblocks (v0.91b). A árvore filogenética foi reconstruída usando o método de máxima verossimilhança implementado no programa PhyML (v3.1/3.0 aLRT). O modelo de substituição padrão foi selecionado assumindo uma proporção estimada de sites invariantes (de 0,431) e 4 categorias de taxa distribuída gama para levar em conta a heterogeneidade da taxa entre os sites. O parâmetro de forma gama foi estimado diretamente dos dados (gama=0,717). A confiabilidade da ramificação interna foi avaliada pelo método bootstrap (1000 réplicas de bootstrap). A representação gráfica e edição da árvore filogenética foi realizada com TreeDyn (v198.3). Os clados são representados por letras maiúsculas. A análise foi realizada na plataforma Phylogeny.fr (<http://www.phylogeny.fr/>).

4. DISCUSSÃO

A raiva é uma das doenças neurológicas virais mais importantes em saúde animal e pública. Neste estudo, os bovinos foram os mais acometidos, seguidos de equinos, muares, jumentos e ovinos, resultados semelhantes aos obtidos por Silva et al. (2017) e Belotto et al. (2005). Bovinos, cavalos, mulas e ovelhas são principalmente infectados com RABV variante 3 comum no México (Velasco-Villa, et al., 2006), Colômbia (Páes, et al., 2007) e Brasil (Kobayashi, et al., 2007, Kobayashi, et al., 2008, Castilho, et al., 2010).

De acordo com Matta et al. (2010), a distribuição dos casos de RABV está relacionada não apenas à distribuição e comportamento da HM, mas também à geografia, relevo, clima e altitude. Isso é evidente em quatro clados, onde as amostras pertencem a cidades contíguas. Alternativamente, outro aspecto também pode estar envolvido, especialmente no clado C, onde duas amostras de locais geograficamente distantes eram geneticamente semelhantes, com focos ocorrendo em um curto período de tempo. Isso sugere que o comércio e transporte de gado de uma região para outra, muito comum no MT, poderia contribuir para a ocorrência em local distante da infecção.

Características de ambientes naturais e artificiais favorecem a colonização de HM em abrigos permanentes ou temporários (Ribeiro et al., 2021). Isso ajuda a espalhar o vírus para outras regiões e/ou manter as variantes em uma determinada região (Kobayashi, et al., 2008, Benavides, et al., 2020). Casas abandonadas, poços, valas, túneis, minas, pontes e bueiros, bem como cupins, árvores ocas e montanhas com cavernas e árvores servem como habitats. Os rios funcionam como corredores de uma região para outra e fornecem locais para abrigos temporários, como buracos formados pela água da chuva, que ficam expostos durante a estação seca.

As mudanças ambientais, como o desmatamento, levam os morcegos a procurar novos abrigos e, como consequência, invadem outras colônias causando disputas territoriais e de parceiros, proporcionando um aumento na circulação viral (Almeida, et al., 2019). Segundo estudos de Condori-Condori et al. (2013), diferentes linhagens de RABV podem se sobrepor temporal e geograficamente, e o mesmo comportamento foi observado em nosso estudo nos clados A e B, provavelmente devido ao intenso comércio de animais entre os produtores rurais do estado. Este conceito de redes é mencionado por Negreiros et al. (2018), e pode resultar em maiores taxas de transmissão viral.

5. CONCLUSÃO

Este estudo sugere que existem grupos geneticamente distintos dentro da linhagem RABV associados a *Desmodus rotundus* em MT. A genotipagem pode auxiliar no entendimento da

dinâmica populacional da RABV associada a aspectos ambientais e geográficos e pode subsidiar as medidas profiláticas de Controle e Vigilância.

Fonte de financiamento: CAPES

Declaração de interesse: Nenhum

Declaração de contribuição de autoria

Maria Fernanda Aranega Pimentel: Conceituação, Metodologia, Análise formal, Curadoria de dados, Redação – versão original. **Selma Maria Nassarden:** Conceituação, Recursos. **Stéfano Luís Cândido:** Análise formal, Recursos, Captação de financiamento. **Valéria Dutra:** Conceituação, Metodologia, Redação – revisão e edição. **Luciano Nakazato:** Conceituação, Metodologia, Validação, Redação – revisão e edição, Supervisão.

REFERENCES

- Almeida, M.F., Rosa, A.R., Martorelli, L.F.A., Kataoka, A.P.A.G., Aires, C.C., 2019. Rabies virus monitoring in bat populations in Rondônia state, Brazil. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. 52. e20180199. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0199-2018>
- Almeida, G.L., Cargnelutti, J.F., Ries, A.S., Ferreira, J.C., Rosa, J.C.A., Batista, H.B.C.R., Flores, E.F., Weiblen, R., 2020. Sequence analysis of nucleoprotein gene reveals the co-circulation of lineages and sublineages of rabies virus in herbivorous in Rio Grande do Sul state, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00226-z>
- Benavides, J.A., Valderrama, W., Recuenco, S., Uieda, W., Suzán, G., Avila-Flores, R., Velasco-Villa, A., Almeida, M., Andrade, F.A.G., Molina-Flores, B., Vigilato, M.A.N., Pompei, J.C.A., Tizzani, P., Carrera, J.E., Ibanez, D., Streicker, D.G., 2020. Defining New Pathways to Manage the Ongoing Emergence of Bat Rabies in Latin America. *Viruses*. 12, 1002. <https://doi.org/10.3390/v12091002>
- Belotto, A., Leanes, L.F., Schneider, M.C., Tamayo, H., Correa, E., 2005. Overview of rabies in the Americas. *Virus Research*. 111, 5-12. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.03.006>
- Castilho, J.G., Carnieli Jr., P., Oliveira, R.N., Fahl, W.O., Cavalcante, R., Santana, A.A., Rosa, W.L.G.A., Carrieri, M.L., Kotait, I., 2010. A Comparative Study of Rabies Virus isolates from hematophagous bats in Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*. 46(4), 1335-1339. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1335>
- Condori-Condori, R.E., Streicker, D.G., Cabezas-Sanchez, C., Velasco-Villa, A., 2013. Raiva Enzoótica e Epizoótica Associada a Morcegos Vampiros, Peru. *Doenças infecciosas emergentes*. 19(9). <https://dx.doi.org/10.3201/eid1909.130083>
- IBGE, 2019 - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. -Províncias estruturais, compartimentos de relevo, tipos de solos e regiões fitoecológicas. Rio de Janeiro.

- Kanitz, F.A., Kowalski, A.P., Batista, H.B.C.R., Carnieli Jr, P., Oliveira, R.N., Weiblen, R., Flores, E.F., 2012. Molecular epidemiology of an outbreak of bovine rabies in central Rio Grande do Sul, Brazil, 2012. *Ciência Rural*. v. 44, n. 5. pp. 834-840. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500012>
- Kobayashi, Y., Sato, G., Kato, M., Itou, T., Cunha, E.M., Silva, M.V., Mota, C.S., Ito, F.H., Sakai, T., 2007. Genetic diversity of bat rabies viruses in Brazil. *Archives of Virology* 152, 1992–2004. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-1033-y>
- Kobayashi, Y., Sato, G., Mochizuki, N., Hirano, S., Itou, T., Carvalho, A.A.B., Albas, A., Santos, H.P., Ito, F.H., Sakai, T., 2008. Molecular and geographic analyses of vampire bat-transmitted cattle rabies in central Brazil. *BMC Veterinary Research*. 4, 44. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-44>
- Matta, G.C.A., Nociti, D.L.P., Carvalho, A.A.B., Samara, S.I., Ito, F.H., Sakai, T., Itou, T., Sato, G., Kobayashi, Y., Mochizuki, M., 2010. Genetic Characterization And Geographic Distribution Of Rabies Virus Isolates From Cattle In Mato Grosso, Brazil. *Arquivo Instituto Biológico*. 77(1), 19-24.
- MAPA, 2009 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual Técnico – Controle da Raiva dos Herbívoros. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília.
- MAPA, 2019 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Informação e Epidemiologia – Saúde Animal. <https://indicadores.agricultura.gov.br/saudeanimal/index.htm>
- MS, 2008 - Ministério da Saúde. Manual de Diagnóstico Laboratorial da Raiva. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Editora do Ministério da Saúde. Brasília. 52-64.
- Negreiros, R.L., Grisi-Filho, J.H.H., Dias, R.A., Ferreira, F., Valéria, S.F., Homem, V.S.F., Neto, J.S.F., Ossada, R., Amaku, M., 2018. Cattle trade between and within biomes in the state of Mato Grosso, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research*. 38(11), 2023-2028. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5661>
- OIE 2020 - World Organisation for Animal Health. <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/rabies-portal/about-rabies/>
Acesso em 20/07/2020.
- Pães, A., Velasco-Villa, A., Rey, G., Rupprecht, C.E., 2007. Molecular epidemiology of rabies in Colombia 1994–2005 based on partial nucleoprotein gene sequences. *Virus Research* 130, 172–181. <https://doi:10.1016/j.virusres.2007.06.008>
- Ribeiro, J., Vieira, R.G.V., Martins, C.M., Ferreira, F., Araujo, J.P., Ullmann, L.S., Santos, A.P., Biondo, A.W., 2021. Spatial Distribution of Bat Shelters and Livestock Rabies in Southern Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 21(10). <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2730>
- Sambrook, J., Russell, D.W., 2001. *Molecular Cloning - A Laboratory Manual*, 3th ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Silva, G.C.P., Santos, R.F., Rocha, S.M.R., Reis, V.G.L., Santos, G.R., Godoy, H.P., Mathias, L.A., Nociti, D.L.P., 2017. Profile of the occurrence of animal rabies in different species in the State of Mato Grosso, Brazil, from 2002 to 2011. *R. Bras. Ci. Vet.* v. 24, n. 3, p. 151-156. <https://periodicos.uff.br/rbcv/article/view/7742>

Soares, R.M., Bernardi, F., Sakamoto, S.M., Heinemann, M.B., Cortez, A., Alves, L.M., Meyer, A.D., Ito, F.H., Richtzenhain, L.J., 2002. A Heminested Polymerase Chain Reaction for the detection of Brazilian rabies isolates from vampire bats and herbivores. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz.* 97(1), 109-111.

Velasco-Villa, A., Orciari, L.A., Juárez-Islas, V., Gómez-Sierra, M., Padilla-Medina, I., Flisser, A., Souza, V., Castillo, A., Franka, R., Escalante-Mañe, M., Sauri-González, I., Charles E. Rupprecht, C.E., 2006. Molecular Diversity of Rabies Viruses Associated with Bats in Mexico and Other Countries of the Americas. *Journal of Clinical Microbiology.* 44(5), 1697-1710. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.5.1697-1710.2006>

WHO, 1996 - World Health Organisation. Geneva. Laboratory techniques in rabies. Edited by F-X Meslin; Kapdri H Koprowski - 4th ed.

WHO, 2018 - World Organisation for Animal Health. Expert Consultation on Rabies, third report. (WHO Technical Report Series, No. 1012). <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272364/9789241210218-eng.pdf> ISBN 978-92-4-121021-8 ISSN 0512-3054. Acesso em 21/07/2020.

MATERIAIS COMPLEMENTARES

Tabela 01: Amostras de vírus da raiva utilizadas neste estudo, os número de acesso do GenBank, as espécies acometidas, os municípios/países de procedência, o ano de coleta, o bioma de ocorrência, a classificação das sequências nos cladros após o sequenciamento, as respectivas referências utilizadas para a análise filogenética e os número de acesso ao PubMed e artigo através do DOI.

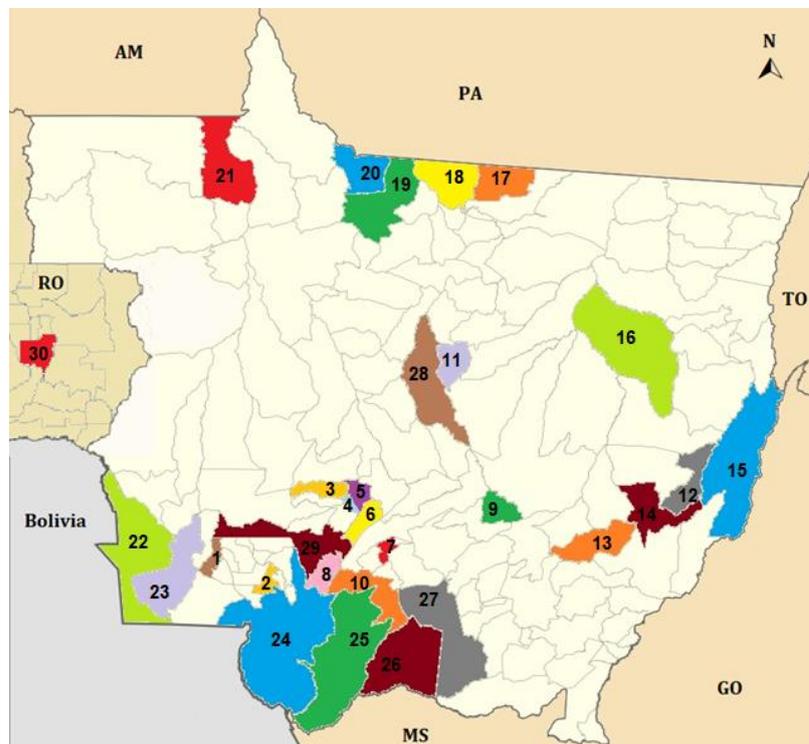
Amostra	Nº GenBank	Espécie	Município/País	Ano	Bioma	Clado	Referências	PubMed/DOI
RABV	NC_001542	C	-----	1988		-	Tordo et al., 1988	3407152
MT_B006Sorr016-16-A	OM480548	B	Sorriso	2016	A	A	Este estudo	#
MT_B009VBST182-14-A	OM480550	B	Vila Bela S. Trindade	2014	A	A	Este estudo	#
MT_B044Nort128-18-C	OM480557	B	Nortelândia	2018	C	A	Este estudo	#
MT_B059AIPa073-19-C	OM480566	B	Alto Paraguai	2019	C	A	Este estudo	#
MT_E077NoMa032-20-A	OM480572	E	Nova Marilândia	2020	A	A	Este estudo	#
MT_B082BaBu360-20-A	OM480576	B	Barra do Bugres	2020	A	A	Este estudo	#
MT_B083PoLa361-20-A	OM480577	B	Pontes e Lacerda	2020	A	A	Este estudo	#
MT_B110Jaur125-21-A	OM480590	B	Jauru	2021	A	A	Este estudo	#
MT_A053SALe067-16-P	OM480562	A	Santo A. Leverger	2016	P	A	Este estudo	#
MT_B107Acor108-20-C	OM480588	B	Acorizal	2020	C	A	Este estudo	#
MT_B080Aren096-20-A	OM480574	B	Arenópolis	2020	A	A	Este estudo	#
MT_B084BaBu006-21-A	OM480578	B	Barra do Bugres	2021	A	A	Este estudo	#
MT_B112PoEs131-21-C	OM480591	B	Porto Estrela	2021	C	A	Este estudo	#
MT_B008VBST002-14-A	OM480549	B	Vila Bela S. Trindade	2014	A	A	Este estudo	#
MT_M115PISe154-21-C	OM480593	M	Planalto da Serra	2021	C	A	Este estudo	#
MT_B021Cace012-17-P	OM480552	B	Cáceres	2017	P	A	Este estudo	#
MT_B042Cace162-18-P	OM480556	B	Cáceres	2018	P	A	Este estudo	#
MT_B078MiOe033-20-A	OM480573	B	Mirassol D'Oeste	2020	A	A	Este estudo	#
MT_B103Cace275-19-P	OM480586	B	Cáceres	2019	P	A	Este estudo	#
MT_B106MiOe226-19-A	OM480587	B	Mirassol D'Oeste	2019	A	A	Este estudo	#
MT_B002NSJo132-14-C	OM418630	B	Novo S. Joaquim	2014	C	B	Este estudo	#
MT_B003BaBu181-14-A	OM480547	B	Barra do Bugres	2014	A	B	Este estudo	#
MT_E048Coca038-16-C	OM480560	E	Cocalinho	2016	C	B	Este estudo	#
MT_M054NoXa174-18-C	OM480563	M	Nova Xavantina	2018	C	B	Este estudo	#
MT_O062NoNa193-19-C	OM480569	O	Nova Nazaré	2019	C	B	Este estudo	#
MT_B070BaMe332-19-P	OM480570	B	Barão de Melgaço	2019	P	B	Este estudo	#
MT_E109Quer124-21-A	OM480589	E	Querência	2021	A	B	Este estudo	#
MT_B096Poco017-20-C	OM480580	B	Poconé	2020	C	C	Este estudo	#
MT_B056Poco009-19-C	OM480564	B	Poconé	2019	C	C	Este estudo	#
MT_B029Poco111-15-P	OM480553	B	Poconé	2015	P	C	Este estudo	#
MT_B032NSLi187-16-P	OM480554	B	Nossa S. Livramento	2016	P	C	Este estudo	#
MT_E047Poco099-15-C	OM480559	E	Poconé	2015	C	C	Este estudo	#
MT_B038Poco052-17-P	OM480555	B	Poconé	2017	P	C	Este estudo	#
MT_B117SALe064-17-P	OM480595	B	Santo A. Leverger	2017	P	C	Este estudo	#
MT_E051SALe014-18-P	OM480561	E	Santo A. Leverger	2018	P	C	Este estudo	#
MT_B060NSLi077-19-C	OM480567	B	Nossa S. Livramento	2019	C	C	Este estudo	#
MT_B061NSLi191-19-C	OM480568	B	Nossa S. Livramento	2019	C	C	Este estudo	#
MT_B116SALe155-21-P	OM480594	B	Santo A. Leverger	2021	P	C	Este estudo	#

MT_B016AIFI116-18-A	OM480551	B	Alta Floresta	2018	A	D	Este estudo	#
MT_B045Para138-18-A	OM480558	B	Paranaíta	2018	A	D	Este estudo	#
MT_B058Cotr071-19-A	OM480565	B	Cotriguaçu	2019	A	D	Este estudo	#
MT_B076NoMu023-20-A	OM480571	B	Novo Mundo	2020	A	D	Este estudo	#
MT_B081GuNo113-20-A	OM480575	B	Guarantã do Norte	2020	A	D	Este estudo	#
MT_B086Para056-21-A	OM480579	B	Paranaíta	2021	A	D	Este estudo	#
MT_B113Vera138-21-A	OM480592	B	Vera	2021	A	D	Este estudo	#
RO_B097Pare044-21-A	OM480581	B	Parecis*	2021	A	D	Este estudo	#
RO_B098Pare046-21-A	OM480582	B	Parecis*	2021	A	D	Este estudo	#
RO_B099Pare047-21-A	OM480583	B	Parecis*	2021	A	D	Este estudo	#
RO_B100Pare048-21-A	OM480584	B	Parecis*	2021	A	D	Este estudo	#
RO_B101Pare049-21-A	OM480585	B	Parecis*	2021	A	D	Este estudo	#
FOR Chir DR	KF864234.1	Q	Argentina	1994	-	A	Torres, et al., 2014	24661865
BRbv1359	AB905545.1	B	Brasil	2014	-	B	Kobayashi & Itou, 2014	DNP
BR-DR16	AB297642.1	Q	Brasil	2007	-	C	Kobayashi, et al., 2007	17680325
9703FRA	KT276365.1	B	Guiana Francesa	1997	-	D	de Thoisy, et al., 2016	26808820
PERCUSBV38910	JX648444.1	B	Peru	2003	-	D	Condori-Condori, 2003	DNP

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> # <https://DOI:10.1016/j.meegid.2022.105336>

Espécies: A - Asinino; B - Bovino; C - Cão; E - Equino; M - Muar; O - Ovino; Q - Quiróptero. Biomas: A: Amazônico; C: Cerrado; P: Pantanal. DNP – Dados não publicados. * Município de Rondônia.

Figura 2. Mapa com os 30 municípios amostrados, sendo 29 do Estado de Mato Grosso e 01 do estado de Rondônia.



1-Jauru; 2-Mirassol d'Oeste; 3-Nova Marilândia; 4-Nortelândia; 5-Denise; 6-Alto Paraguai; 7-Acorizal; 8-Porto Estrela; 9-Planalto da Serra; 10-Nossa Senhora do Livramento; 11-Vera; 12-Nova Nazaré; 13-Novo São Joaquim; 14-Nova Xavantina; 15-Cocalinho; 16-Querência; 17-Guarantã do Norte; 18-Novo Mundo; 19-Alta Floresta; 20-Paranaíta; 21-Cotriguaçu; 22-Vila Bela da Santíssima Trindade; 23-Pontes e Lacerda; 24-Cáceres; 25-Poconé; 26-Barão de Melgaço; 27-Santo Antonio do Leverger; 28-Sorriso; 29-Barra do Bugres; 30-Parecis.

APÊNDICE B – Três espécies de morcegos hematófagos capturados e identificados no Brasil, após mudanças antrópicas.

Revista

 Search  [Authors & Editors](#) [Log in](#)



EcoHealth
One Health - Ecology & Health - Public Health Official journal of EcoHealth Alliance



[Editorial board](#) [Aims & scope](#)

- An international journal at the interface of ecology, health sciences and sustainability
- Addresses health and sustainability challenges within diverse settings, ranging from public health practice and human and veterinary medicine, to conservation and ecosystem management, to rural and urban development and planning
- Editor-In-Chief: Peter Daszak, EcoHealth Alliance, New York, USA
— [show all](#)

Editor-in-Chief
Peter Daszak

Publishing model

 You have access to our articles

For authors

[Submission guidelines](#)

[Manuscript editing services](#)

[Ethics & disclosures](#)

[Open Access fees and funding](#)

[Contact the journal](#)

Submit manuscript

Qualis

 ACESSO RESTRITO

INÍCIO >> Qualis >> Qualis Periódicos

Qualis Periódicos

* Evento de Classificação:
CLASSIFICAÇÕES DE PERIÓDICOS QUADRIÊNIO 2017-2020

Área de Avaliação:
 MEDICINA VETERINÁRIA

ISSN:

Título:
 ECOHEALTH

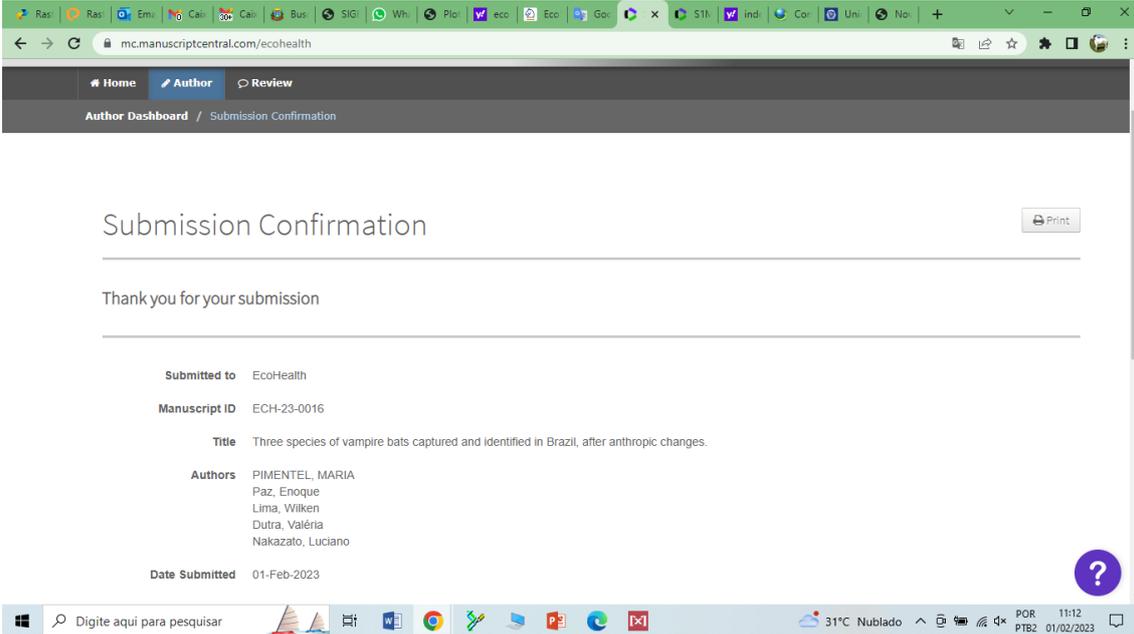
Classificação:
 A2

[Consultar](#) [Cancelar](#)

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
1812-4202	ECOHEALTH (NEW YORK, PRINT)	MEDICINA VETERINÁRIA	A2

[Início](#) [Anterior](#) [1](#) [Próximo](#) [Fim](#)

Submissão



mc.manuscriptcentral.com/ecohealth

Home Author Review

Author Dashboard / Submission Confirmation

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to EcoHealth

Manuscript ID ECH-23-0016

Title Three species of vampire bats captured and identified in Brazil, after anthropic changes.

Authors PIMENTEL, MARIA
Paz, Enoque
Lima, Wilken
Dutra, Valéria
Nakazato, Luciano

Date Submitted 01-Feb-2023

Digite aqui para pesquisar

31°C Nublado

POR 11:12
PTB2 01/02/2023

Três espécies de morcegos hematófagos capturados e identificados no Brasil, após mudanças antrópicas.

Maria Fernanda Aranega Pimentel, Enoque Moura Paz, Wilken Aparecido de Carvalho Lima, Valéria Dutra, Luciano Nakazato

RESUMO

A raiva é uma enfermidade viral neurotrópica, é letal e que não tem tratamento eficaz. Mesmo sendo uma das doenças com registros muito antigos, com evolução em relação a medidas de controle e profilaxia, milhares de pessoas ainda morrem em decorrência desta infecção viral. A raiva é transmitida pela mordida de um mamífero doméstico e selvagens infectados. Morcegos têm sido protagonistas para transmissão de raiva para animais e humanos. O controle da raiva dos herbívoros Estado de Mato Grosso é responsabilidade do Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso, preconizado pelo Programa Estadual de controle da raiva dos herbívoros. Entre as inúmeras atividades realizadas pelo Instituto, a captura de morcegos hematófagos é realizada para controlar a população e mitigar os riscos de transmissão da enfermidade. De dezembro/2015 a março/2017 foram realizadas capturas no norte do Estado de Mato Grosso no município de Paranaíta/MT por duas equipes do Instituto, devido à notificação de espoliação por morcegos em bovinos, equídeos, aves e suídeos. Nestas ações foram capturados exemplares das três espécies da subfamília *Desmodontinae*. As espécies *Desmodus rotundus* e *Diaemus youngi* já foram relatadas, porém este é o primeiro registro científico da espécie *Diphylla ecaudata* no Estado de Mato Grosso.

Palavras chave: Morcegos hematófagos, *Diphylla ecaudata*, *Diaemus youngi*, *Desmodus rotundus*, mudanças antropogênicas, raiva, INDEA-MT.

ABSTRACT

Rabies is a neurotropic viral disease, it is lethal and has no effective treatment. Even though it is one of the diseases with very old records, with evolution in relation to control and prophylaxis measures, thousands of people still die as a result of this viral infection. Rabies is transmitted by the bite of an infected domestic and wild mammal. Bats have been protagonists in the transmission of rabies to animals and humans. The control of rabies in herbivores in the State of Mato Grosso is the responsibility of the Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso, advocated by the State Program for the control of rabies in herbivores. Among the numerous activities carried out by the Institute, the capture of hematophagous bats is carried out to control the population and mitigate the risks of transmission of the disease. From December/2015 to March/2017, captures were carried out in the north of the State of Mato Grosso in the municipality of Paranaíta/MT by two teams from the Institute, due to the notification of spoliation by bats in cattle, horses, birds and swine. In these actions, specimens of the three species of the *Desmodontinae* subfamily were captured. The species *Desmodus rotundus* and *Diaemus youngi* have already been reported, but this is the first scientific record of the species *Diphylla ecaudata* in the State of Mato Grosso.

Keywords: Vampire bats, *Diphylla ecaudata*, *Diaemus youngi*, *Desmodus rotundus*, anthropogenic changes, rabies, INDEA-MT.

INTRODUÇÃO

Os morcegos têm sido os atores principais na manutenção e transmissão do vírus da raiva tanto para humanos quanto para os animais (MS, 2022, JACKSON, 2018). *Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* e *Diaemus youngi* da subfamília *Desmodontinae* são quirópteros hematófagos relatados no Brasil (REIS, et al., 2007). As principais características morfométricas e ecológicas dessas espécies estão descritas na Tabela 01 em material complementar.

Desmodus rotundus (E. Geoffroy, 1810) tem ampla distribuição nas Américas, sendo encontrado desde o México, norte da Argentina, Chile e Uruguai (GREENHALL, et al., 1983; REIS et al., 2007; PANAFTOSA/SPV-OPS/OMS, 2022), a mais abundante das três hematófagas e a espécie envolvida na maioria dos casos de raiva (REIS, et al., 2017).

Diaemus youngi é uma espécie amplamente distribuída, porém é considerada rara em comparação às outras duas espécies hematófagas (REIS, et al., 2017).

Diphylla ecaudata é a segunda espécie hematófaga mais encontrada, embora não tenha tido registro científico até o momento em Mato Grosso (REIS, et al., 2007; REIS, et al., 2017).

A região norte do estado de Mato Grosso está localizada no bioma amazônico, com vegetação predominante de florestas ombrófilas densas e abertas (EMBRAPA, 2022; MT, 2022), com grande possibilidade de conter abrigos naturais para os morcegos. A distribuição dos morcegos hematófagos é uma importante informação para saúde pública, pois são as únicas espécies no mundo com este hábito alimentar, além de estarem envolvidas como reservatórios de várias enfermidades (ALVES, et al., 2022).

Com mais de 20% da totalidade de espécies do mundo, o Brasil possui a maior diversidade de espécies animais do planeta (MMA, 2022). A ocorrência de espécies depende de fatores como a heterogeneidade estrutural do bioma, com recursos de habitat mais diversificados permitindo a coexistência de mais espécies, minimizando o efeito da competição e, conseqüentemente, aumentando a biodiversidade local (DE MIRANDA, et al., 2022). Entretanto, as modificações antrópicas no meio ambiente podem ocasionar variações na fauna e conseqüentemente alterar a ocorrência de doenças emergentes e re-emergentes como a raiva e outras enfermidades como as arboviroses.

Desde o início do século XX, a epidemiologia da raiva tem sido influenciada por consequências desencadeadas pelas transformações ambientais geradas pelas necessidades humanas de desenvolvimento, através de derrubadas de florestas para utilização das terras para atividades agrícolas e introdução da pecuária bovina, assim como para a extração de madeira e mineração (BRASIL, 2009).

O objetivo deste trabalho é descrever a modificação de fauna de morcegos hematófagos após transformações antrópicas na região de Paranaíta – MT.

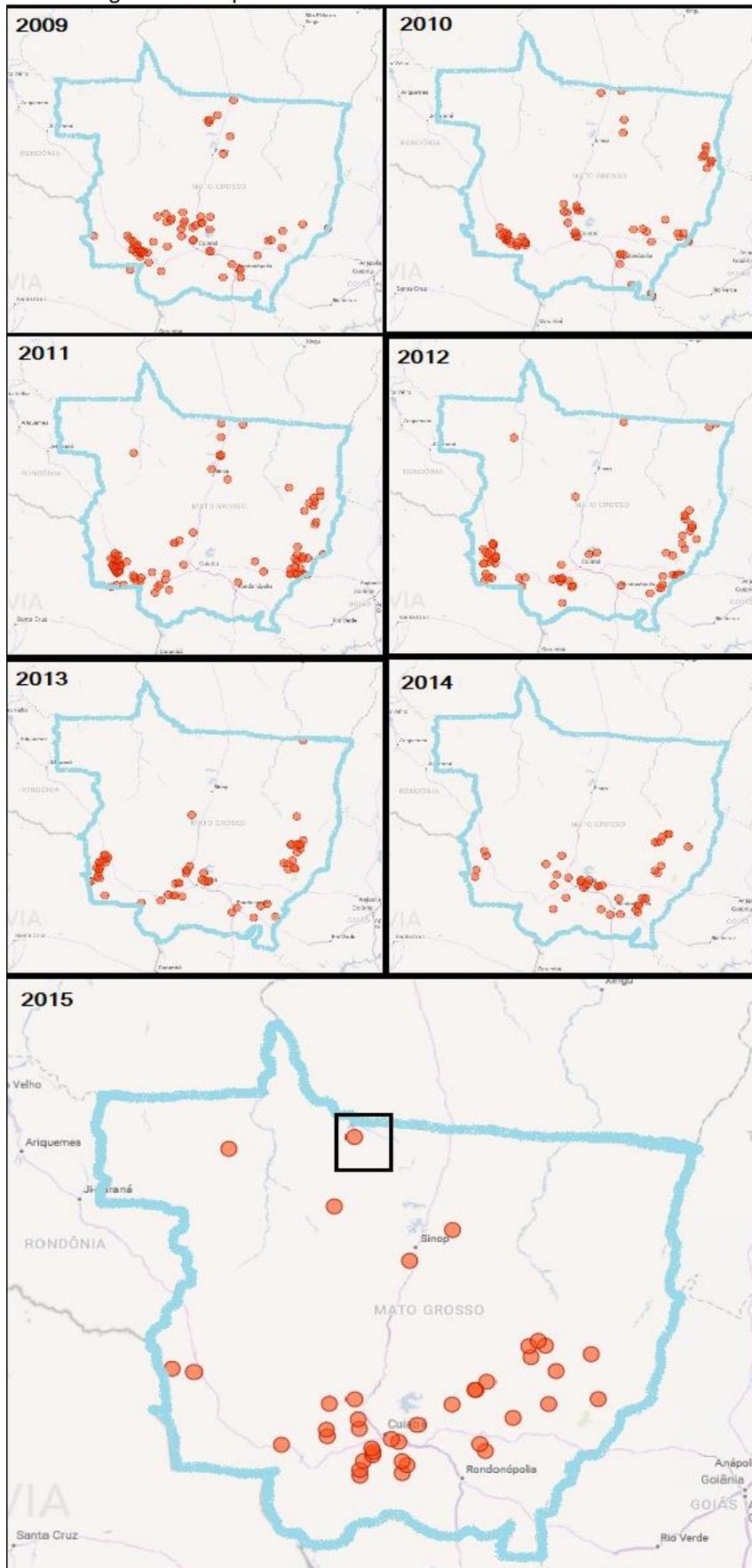
MATERIAL E MÉTODOS

Essa necessidade de desenvolvimento econômico, e para proporcionar conforto às comunidades humanas (BRASIL, 2009) foi iniciada a construção de uma hidrelétrica no município de Paranaíta, no rio Teles Pires, em 2011. Em dezembro de 2014, as comportas foram fechadas para o enchimento do lago (reservatório), que foi concluído em janeiro de 2015. De 2009 a 2014 não houve focos de raiva (Figura 01), nem notificação de sugadura em animais de interesse pecuário no município (INDEA, 2022a).

O estudo foi baseado em análises de dados retrospectivos e quatro capturas seriadas, realizadas em duas propriedades. As capturas ocorreram em períodos pós foco de raiva em uma terceira propriedade, também do município de Paranaíta-MT. O foco ocorreu aproximadamente 11 meses após o término do enchimento do lago. As capturas foram realizadas em propriedades atendidas pelo INDEA-MT com relatos de sugadura em animais de interesse pecuário.

Os equipamentos utilizados para a captura dos morcegos em todas as 4 atividades foram as redes de neblina de 7m x 2,5m; 9m x 2,5m e 12m x 2,5m, com a malha de 20mm; hastes de PVC e fixadores de hastes (vergalhão); e demais materiais necessários constantes no Manual Técnico – Controle da raiva dos herbívoros (BRASIL, 2009). Os morcegos hematófagos foram identificados baseados nas suas características morfológicas segundo Allen (1896), Miller (1907), Greenhall, et al. (1984), Magaña-Cota, et al. (2010) e Rocha (2014). Dados retrospectivos do sistema do INDEA-MT foram coletados e analisados para verificar a ocorrência e abundância de morcegos capturados em visitas em propriedades rurais de MT.

Figura 01 - Mapa de Mato Grosso com focos de raiva de 2009 a 2015.



Círculos vermelhos Focos, quadrado preto Região de Paranaíta/MT. Fonte: INDEA, 2023.

Captura 01

A captura 01 foi agendada após a notificação do produtor rural que reclamou de sugadura em bovinos, equinos, aves e suínos. A atividade foi realizada no dia 16/12/2015, pela equipe de captura da Unidade Regional de Supervisão de Alta Floresta, que estava composta por duas pessoas, um FEDAF – Médico veterinário e um AFEDAF I.

Os fiscais compareceram na propriedade “A” do município de Paranaíta-MT (9° 31’ 22” S / 056° 42’ 18” W) para atender a notificação do proprietário.

Os bovinos e equinos estavam em pastos longe da sede da propriedade, onde não havia curral ou outra instalação que permitisse a montagem das redes. Por este motivo a captura ficou restrita onde as outras espécies estavam alojadas. Os suínos estavam abrigados em uma pocilga, e foi observado que um deles possuía uma lesão característica de mordedura de morcego entre as orelhas. As aves dormiam empoleiradas nas árvores ao redor da casa.

Foram armadas oito redes no total, duas ao redor da pocilga e as demais entre as árvores. As mesmas foram abaixadas por volta das 19:30h, e a cada 15 minutos as redes eram vistoriadas com o objetivo de retirar os morcegos presos. As redes foram fechadas às 03:00h do dia seguinte. Os animais que caíram nas redes foram retirados com cuidado e colocados em uma gaiola retrátil.

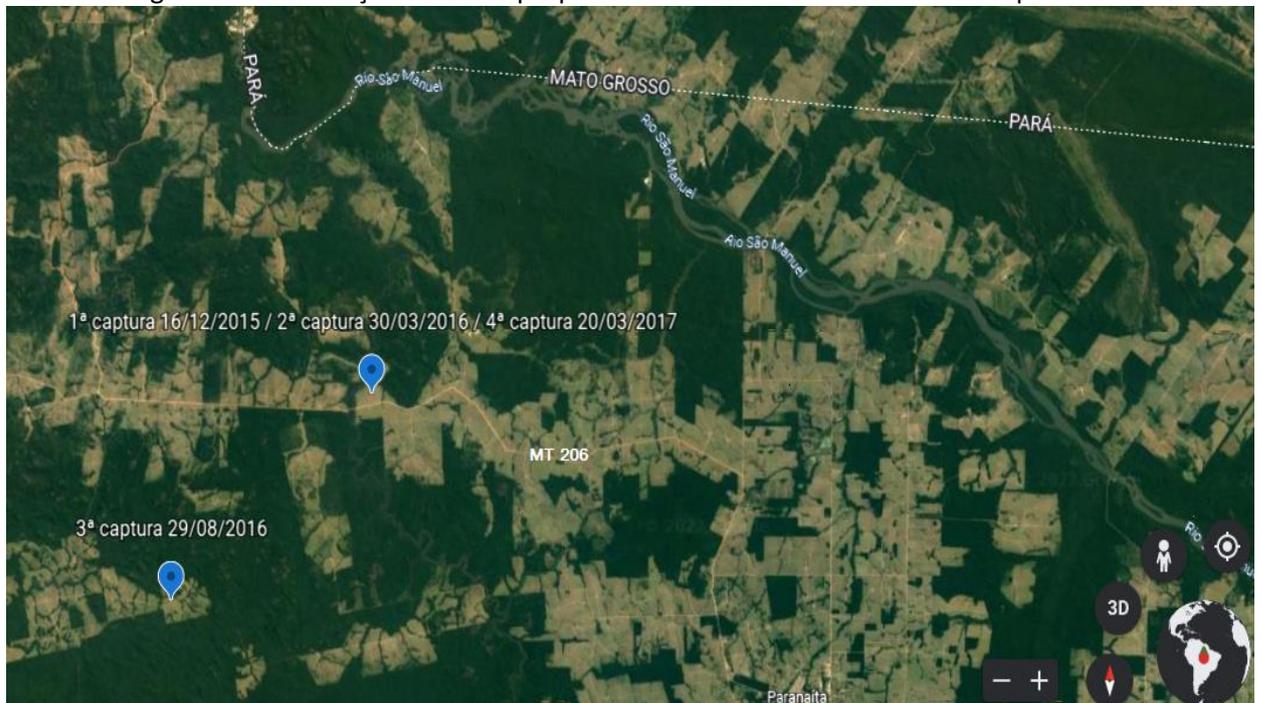
Captura 02

Esta atividade foi realizada na mesma propriedade da captura 1 no dia 30/03/2016 atendendo a nova notificação de espoliação em bovinos, equinos, suínos e aves, e pelos mesmos motivos foi realizada no mesmo local da primeira. Nesta data dois médicos veterinários faziam parte da equipe de captura. As sete redes foram armadas ao redor da pocilga e das árvores onde as aves empoleiraram. As mesmas foram baixadas às 19:00h, e levantadas às 23:00h. Os animais capturados foram colocados em gaiolas separadas, uma para os morcegos hematófagos e uma para os morcegos não hematófagos.

Captura 03

Esta captura foi realizada na propriedade “B” (S 9° 37' 16,3" / W 56° 48' 57,7"). As localizações das duas propriedades estão representadas na figura 01. O proprietário notificou agressões por morcegos hematófagos em bovinos e aves. A equipe de servidores do INDEA compareceu no dia 29/08/2016, e armaram nove redes ao redor do curral e dos poleiros. As mesmas foram esticadas por volta das 19:00h e fechadas às 03:00h do dia seguinte.

Figura 02 - Localização das duas propriedades onde foram realizadas as capturas.



Locais das capturas rodeados de matas fechadas, ao norte rio Teles Pires, onde foi construída a hidrelétrica e divisa com o Pará.

<https://earth.google.com/web/@-9.49928042,-56.68297655,303.42796868a,51896.0348808d,35y,359.99993445h,0t,0r>

Captura 04

Esta atividade foi realizada no dia 20/03/2017, na propriedade “A”, onde o proprietário informou agressões nas aves da propriedade. Mesmo não tendo notificação de espoliação em suínos, a equipe de captura armou as redes ao redor da pocilga e entre as árvores. A captura iniciou às 19:00h e encerrada às 23:00h.

RESULTADOS

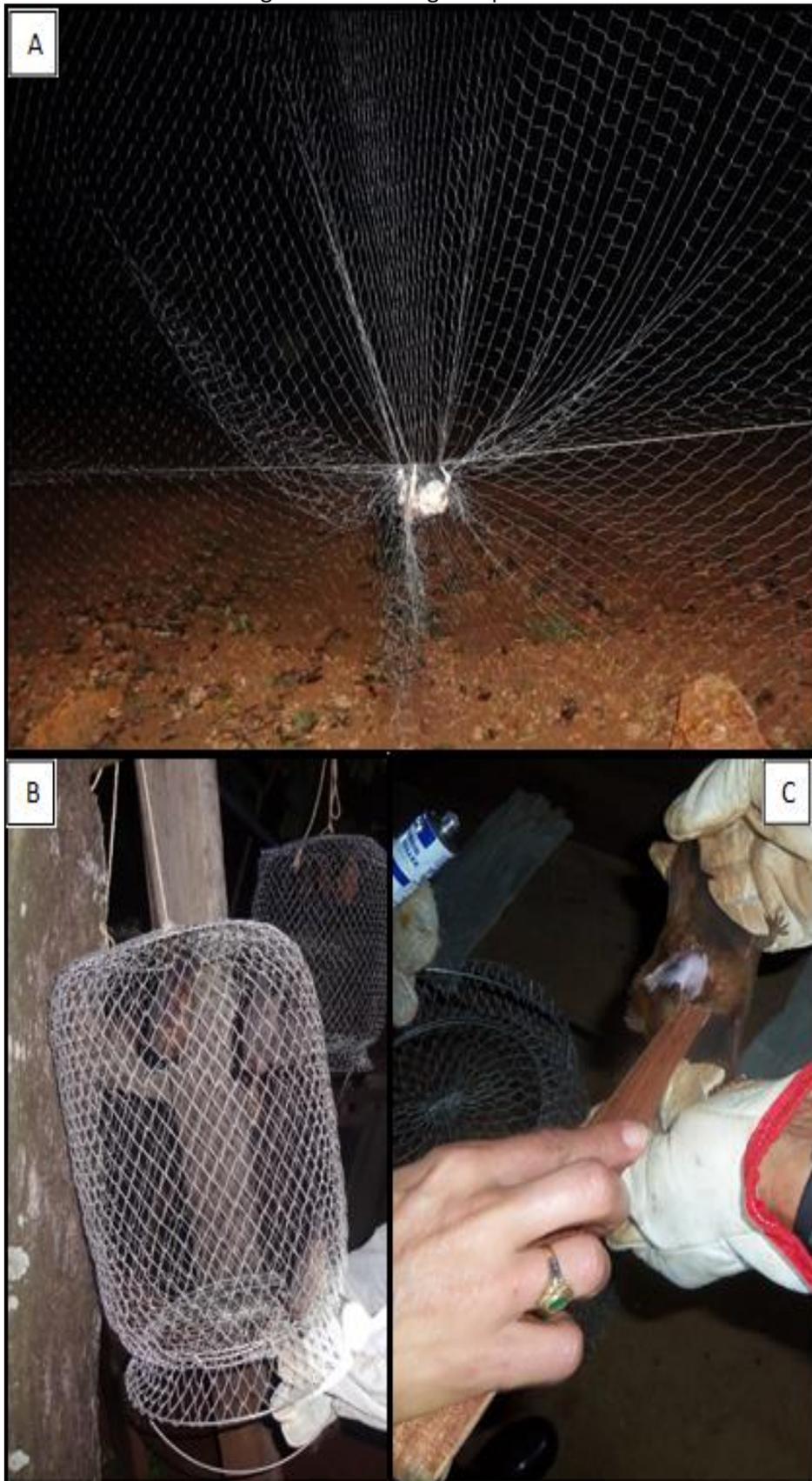
Os animais capturados foram separados em duas gaiolas diferentes, os hematófagos em uma e os não hematófagos em outra. Apenas os morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* que foram capturados foram tratados com a pasta vampiricida a base de Warfarina (2g) (Figura 03). As informações referente ao resultados das quatro capturas podem ser observadas na tabela 02.

Tabela 02 - Informações das capturas de morcegos realizadas em duas propriedades no município de Paranaíta, MT. Brasil

	Captura 1	Captura 2	Captura 3	Captura 4
Local	Propriedade A	Propriedade A	Propriedade B	Propriedade A
Coordenadas	S 9° 31' 22" W 56° 42' 18"	S 9° 31' 22" W 56° 42' 18"	S 9° 37' 16,3" W 56° 48' 57,7"	S 9° 31' 22" W 56° 42' 18"
Data	16/12/2015	30/03/2016	29/08/2016	23/03/2017
Espécies espoliadas	Bov; Equi; Ave; Sui	Bov; Equi; Ave; Sui	Bov; Ave	Ave
Redes utilizadas	8	7	9	8
Local redes	Pocilga (2); Poleiros (6)	Pocilga (2); Poleiros (5)	Curral (4); Poleiros (5)	Pocilga (2); Poleiros (6)
Horário (início/Fim)	19:30 – 03:00h	19:00 – 23:00h	19:00 – 03:00h	19:00 – 23:00h
Verificação redes	A cada 15 min	A cada 15 min	A cada 15 min	A cada 15 min
Espécies capturadas				
- <i>Daemus youngi</i>	5 (5M)	3 (1F/2M)	-----	3 (3M)
- <i>Diphylla ecaudata</i>	3 (1F/2M)	-----	1 (1M)	3 (3M)
- <i>Desmodus rotundus</i>	7 (1F/6M)	1 (1M)	1 (1M)	-----
- MNH	9	3	16	5

Bov – Bovinos; Equi – Equídeos; Ave – Aves; Sui – Suídeos. M – Machos; F – Fêmeas. MV – Médico Veterinário; FEDAF – Fiscal Estadual de Defesa Agropecuária; AFEDAF I – Agente Fiscal de Defesa Agropecuária I.

Figura 03 - Morcegos capturados



A-Morcego preso na rede de neblina; B-Em primeiro plano gaiola com os morcegos não hematófagos, ao fundo gaiola com os morcegos hematófagos; C-Tratamento de um *Desmodus rotundus* com pasta vampiricida. Fonte: Arquivo pessoal.

Os morcegos hematófagos tem o hábito de sair de seus abrigos mais tarde que os morcegos não hematófagos, por este motivo as redes sempre foram baixadas após as 19:00h. O momento de encerrar a captura depende do horário que a lua nasce dentro do calendário lunar, por isso horários diferentes nas quatro capturas. Na captura 1, foram retirados das redes exemplares das três espécies hematófagas existentes (Figuras 04, 05 e 06).

Figura 04 - Morcego da espécie *Desmodus rotundus* capturado em Paranaíta-MT/2015.



A-Coloração cinza característica do *Desmodus rotundus*, nariz curto em formato de ferradura, lábio inferior sulcado; B- Vista dorsal, asa em evidência; C- Polegar com as almofadas em evidência.

Fonte: Arquivo pessoal.

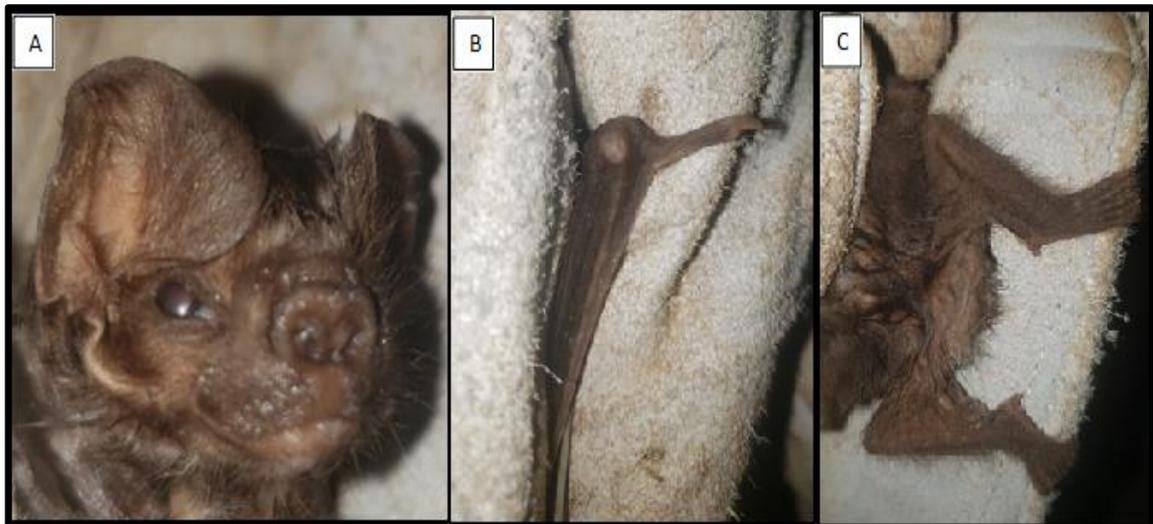
Figura 05 - Morcego da espécie *Diaemus youngi* capturado em Paranaíta-MT/2015.



A-Ponta da asa branca e membrana branca entre 2º e 3º dedos; B- membrana branca entre 2º e 3º dedos e uropatágio reduzido e sem pelos; C-Glândulas bilaterais dentro da boca.

Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 06 - Morcego da espécie *Diphylla ecaudata* capturado em Paranaíta-MT/2015.



A-Vista facial, orelhas redondas, olhos grandes; B-Polegar pouco desenvolvido e sem almofada; C- Pernas peludas e presença do calcâneo. Fonte: Arquivo pessoal

Foram capturados nas quatro atividades 27 exemplares de morcegos hematófagos, sendo 24 machos e 3 fêmeas. Da espécie *Desmodus rotundus* foram capturados 9 indivíduos, da espécie *Diaemus youngi* foram capturados 11 morcegos, e da espécie *Diphylla ecaudata* foram capturados 7 exemplares. A espécie *Diphylla ecaudata* não havia sido descrita na literatura científica no Estado de Mato Grosso, este é o primeiro registro desta espécie no Estado. Os morcegos não hematófagos capturados em todas as atividades foram soltos na natureza sem tratamento. Nenhum animal veio a óbito nas quatro capturas realizadas.

DISCUSSÃO

Os morcegos são reservatórios, e também vetores do vírus da raiva quando estão contaminados, isso faz deste registro uma importante informação, visto que nestas quatro capturas, especialmente na captura 01, caíram nas redes as três espécies hematófagas existentes no planeta. Sendo que a espécie *Diphylla ecaudata* não possuía registro na literatura científica no estado de Mato Grosso (Figura 07).

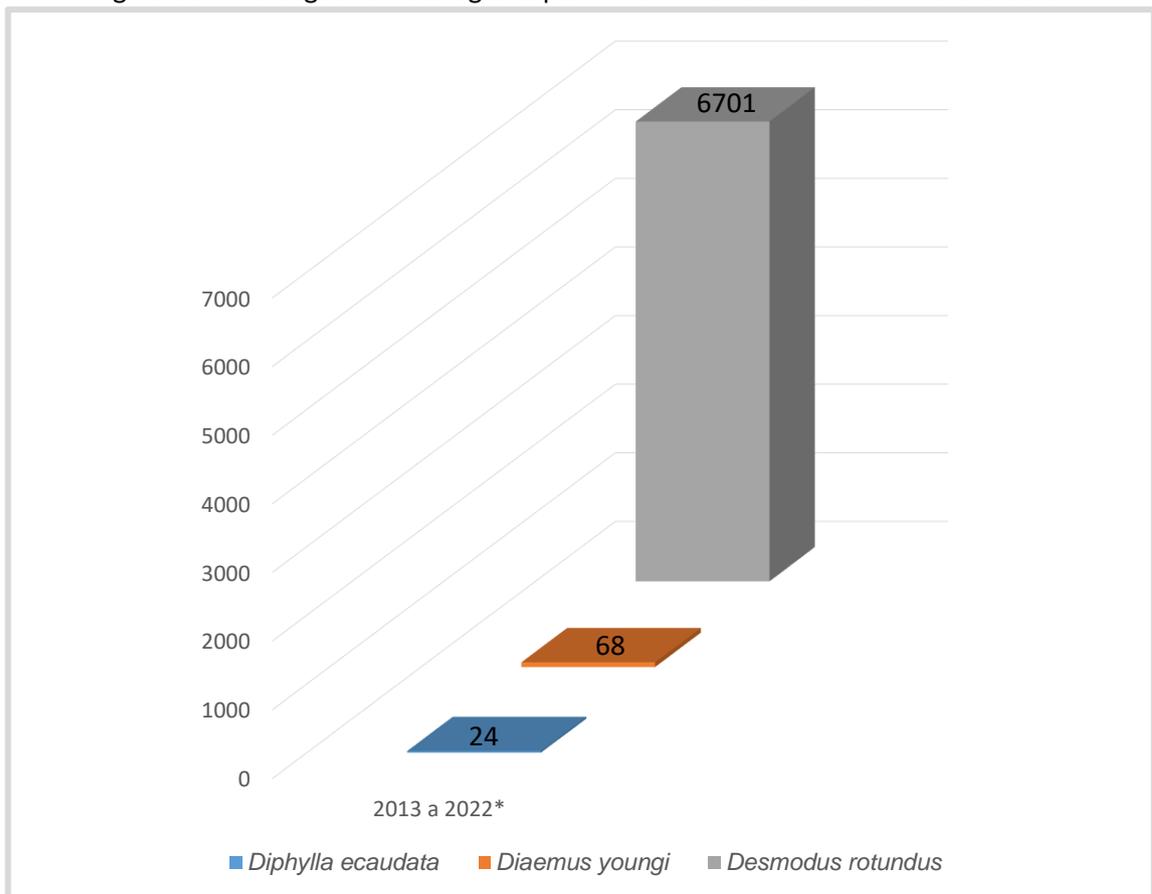
Figura 07 - Distribuição da espécie *Diphylla ecaudata* no Brasil.



Círculos vermelhos - registros da presença da espécie *Diphylla ecaudata*; Amarelo – Estado de Mato Grosso. https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/142610?lang=pt_BR#overview

Das três espécies hematófagas, a espécie *D. rotundus* é a mais abundante, conforme relatado por Reis e colaboradores (2017), no estado de Mato Grosso os números referentes a capturas de 2013 a 2022, mostram um cenário semelhante, conforme podemos observar na figura 08.

Figura 08 - Morcegos hematófagos capturados de 2013 a 2022* em Mato Grosso.

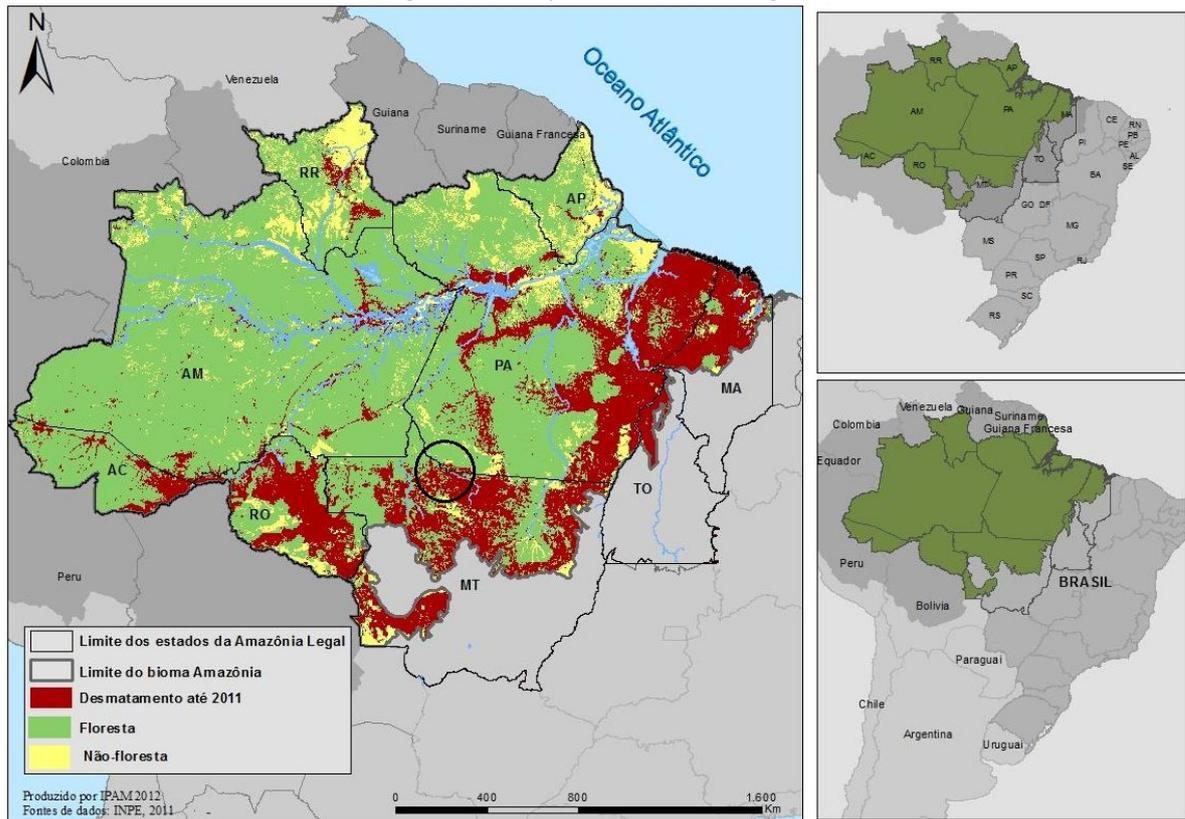


*Informações obtidas até 22/11/2022. Fonte: INDEA/MT, 2022.

O povoado de Paranaíta foi criado em meados de 1979 após a descoberta de ouro na região, e posteriormente os habitantes se dedicaram à extração de madeira e à agropecuária, abrindo grandes áreas para a agricultura e também para o plantio de pastagens para o gado (PARANAÍTA, 2023). Este desmatamento foi lento e progressivo até 2011 (Figura 09) (IPAM, 2023). Em 2011 foi iniciada a construção da hidrelétrica (PARANAÍTA, 2023), e para dar lugar ao reservatório outra grande área foi desmatada, principalmente a mata ciliar do rio Paranaíta (IPAM, 2023), conforme observamos na figura 10. Coincidentemente alguns meses após as mudanças antrópicas, ocorreu um foco de raiva no município, em uma propriedade próxima

ao lago recém formado. Após as modificações iniciaram também as notificações de sugadura de morcegos em animais de várias espécies: bovinos, equídeos, suínos e aves. E no final do ano de 2015 houve um foco de raiva a 9 km em linha reta, da propriedade onde houve a captura 01.

Figura 09. Mapa da Amazônia legal.



Em vermelho o desmatamento até 2011. Círculo preto mostra região de Paranaíta/MT.

<https://ipam.org.br/cartilhas-ipam/desmatamento-em-foco/>

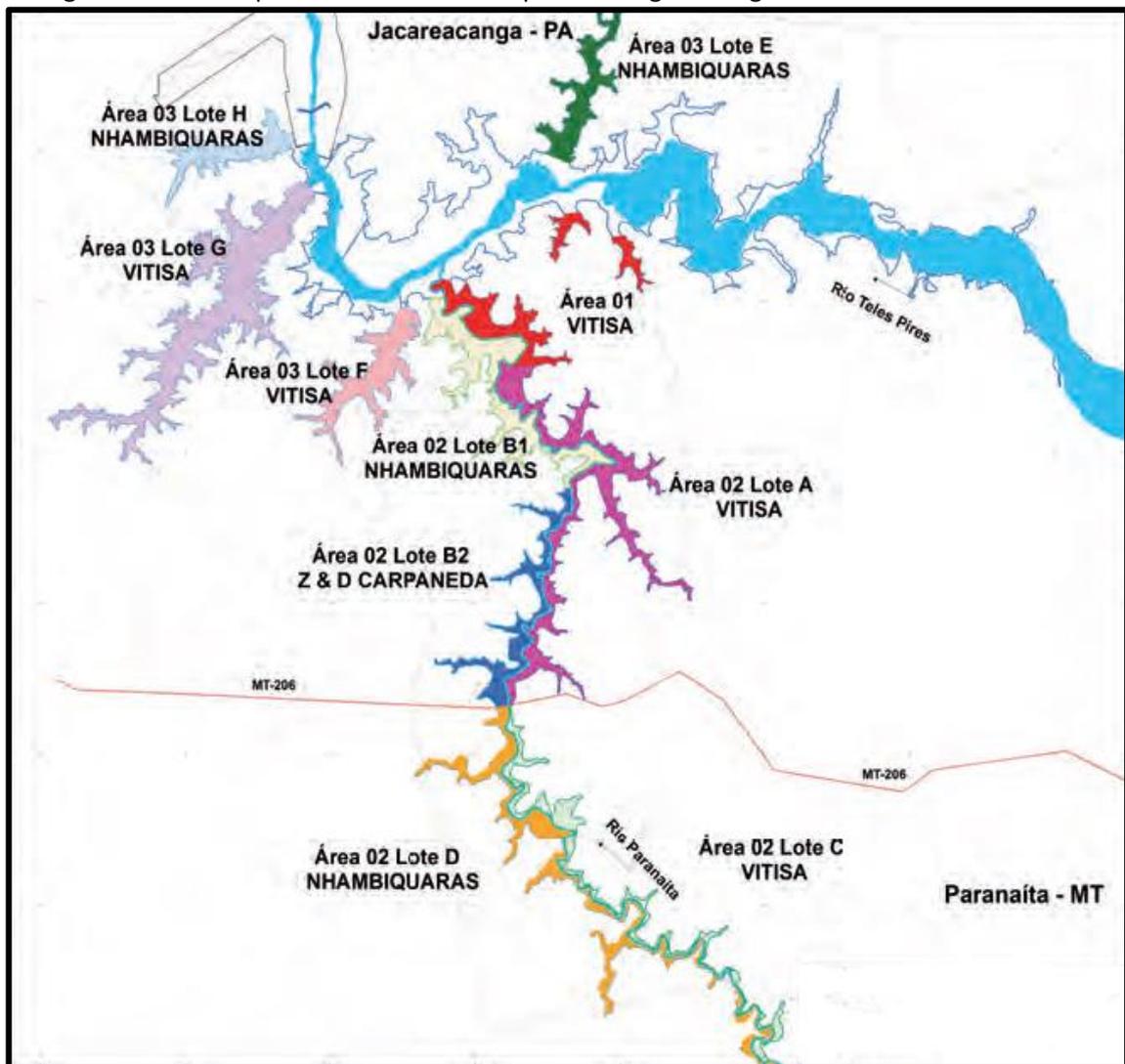
<https://i.pinimg.com/originals/93/f7/2e/93f72ec42f881afa9d9e1e0efc3e2905.jpg>

O enchimento do lago e o desmatamento na área do lago, desalojou muitos animais, inclusive os morcegos hematófagos e não hematófagos, e isso fez com que os quirópteros buscassem novos abrigos, aproximando-se das propriedades, dos animais e das pessoas. Com isso aumentou as notificações de espoliação por morcegos nos animais e aumentaram os focos. Em sete anos, ocorreram 8 focos de raiva no município de Paranaíta, sendo um foco em 2015, um em 2018, três em 2021 e três focos em 2022 (Figura 11).

Morcegos vampiros são afetados pela perturbação ambiental. Quando são desalojados de seus abrigos precisam buscar outros locais para se abrigarem, ou encontrar outra colônia, porém estas colônias já estão com hierarquia definida. Neste momento ocorrem as lutas entre

os morcegos, por território e por fêmeas, ocasionando ferimentos, o estresse que provoca a baixa da imunidade e a consequente circulação viral, como descrito por Almeida e colaboradores (2019). Embora também sejam beneficiados, pois na maioria das vezes, os desmatamentos nesta região são realizados para plantar pastos e colocar animais de interesse pecuário que fornecem o alimento (ITO, et al., 2016).

Figura 10 - Áreas que foram desmatadas para dar lugar ao lago da hidrelétrica Teles Pires.



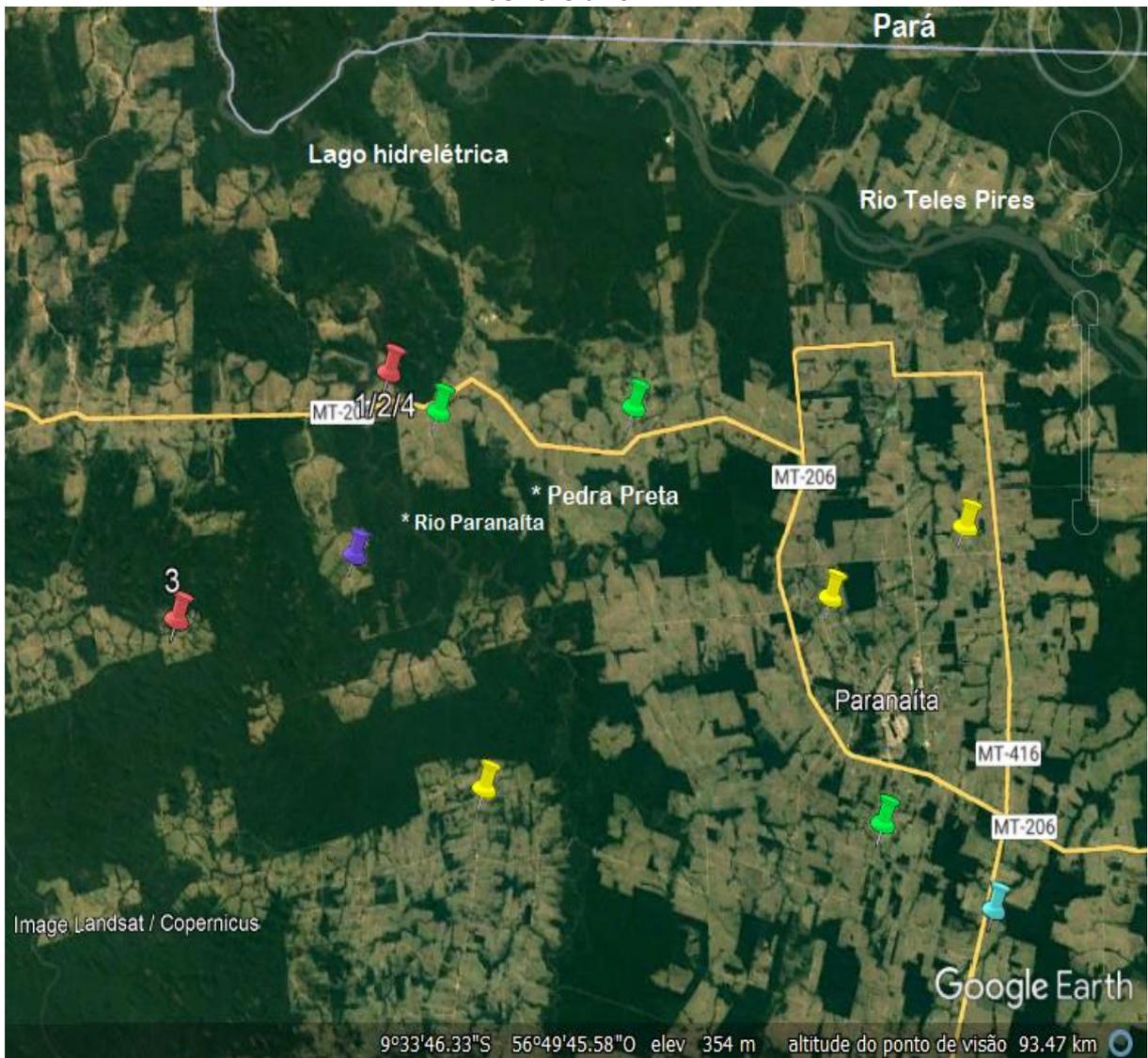
Azul claro Rio Teles Pires, outras cores áreas que foram desmatadas para dar lugar ao reservatório da Hidrelétrica. Fonte: Fearnside, 2015

Quando se trata de desmatamento para extração de madeira sem o controle e o manejo adequados, várias outras árvores são derrubadas ao redor da “árvore alvo” dos madeireiros, podendo destruir abrigos de morcegos que se alojam em ocos de árvores. Quando há a construção de uma hidrelétrica, os abrigos de morcegos, muitas vezes não são

percebidos, e quando ocorre o alagamento, cavernas e buracos que servem de abrigos são inundados, e estes animais são desalojados.

Transformações antrópicas corroboram com as alterações na ecologia dos morcegos hematófagos e também dos morcegos não hematófagos, e segundo Alves e colaboradores (2022) os morcegos são hospedeiros importantes de enfermidades emergentes como o SARS-COV e o SARS-COV-2.

Figura 11 - Localização das capturas de morcegos e dos focos de raiva no município de Paranaíta-MT de 2015 a 2022.



As cores dos marcadores indicam os locais de capturas e os focos. Vermelho - capturas de morcegos; Azul escuro – foco 2015; Azul claro – foco 2018; Verde – focos 2021; Amarelo – focos 2022.

Fonte: Google Earth dados INDEA/MT.

CONCLUSÃO

Modificações antrópicas desalojam e estressam os morcegos hematófagos favorecendo o espalhamento do vírus da raiva e a difusão da enfermidade. O registro de uma espécie nunca antes relatada no estado colabora para o conhecimento da distribuição dos morcegos hematófagos, contribuindo para saúde pública e saúde animal. O sistema de vigilância em saúde animal deve ficar atento às modificações ambientais que podem modificar a eco-epidemiologia de vetores.

MATERIAL COMPLEMENTAR

Tabela 1: Características da Subfamília *Desmodontinae*.

	<i>Desmodus rotundus</i>	<i>Diphylla ecaudata</i>	<i>Diaemus youngi</i>
Registro fóssil	Pleistoceno	Pleistoceno	Sem registro fóssil
Distribuição Nacional	Todos os estados brasileiros e o Distrito Federal	AM, AC, PA, AP, TO, PE, BA, MG, RJ, SP, PR, GO, MS, RO, PI, PB, ES, CE, SE, SC, e DF	AM, AC, PA, AP, TO, PE, BA, MG, RJ, SP, PR, GO, MS, RO, PI, PB, MA, AL, MT e DF
Pelagem	Curta; Dorso marrom acinzentado; Ventre cinza prateado	Densa; Dorso marrom escuro; Ventre marrom claro	Corpo de marrom claro a escuro.
Antebraço	Poucos pelos 50-63mm	Muitos pelos 50-56mm	Poucos pelos 50-56mm
Boca	Sem glândula	Sem glândula	Glândula de cheiro
Pernas	Poucos pelos	Muitos pelos	Poucos pelos
Olhos	Pequenos	Grandes e redondos	Pequenos
Orelhas	Pontudas e separadas	Pequena e arredondada	Curtas com as pontas brancas
Calcâneo	Reduzido	Presente	Ausente
Incisivos	Superiores são pontiagudos e cortantes	Inferiores externos, amplos, forma de leque com 7 lóbulos	*Superiores pontiagudos
Polegar	Alongado, forte e 2 almofadas	Curtos e sem almofadas	Uma almofada
Asas	Cor do corpo	-----	Pontas brancas
Uropatágio	Poucos pelos	Muitos pelos	Poucos pelos
Peso/Porte	25-40g - médio	24-43g - médio	30-45g - médio
Comp. Cabeça-corpo	69-90mm	65-93mm	Média de 85mm
Colônias	20-5000 indivíduos Vários tipos: M+F; M; F+filhotes; famílias	Solitários; 12 indiv. até 500 indivíduos incomum	*De 8 a 12 indivíduos. Até 30 indivíduos
Ambientes	Cavernas, poços, ocos de árvores, minas, edifícios abandonados próximos à água	Cavernas, minas, raro em ocos de árvores	Cavernas e ocos de árvores
Dieta	Sangue de mamíferos médio e grande porte, cães, humanos e aves	Sangue de aves, ocasionalmente gado	Sangue de aves de grande porte, galinhas, pavões, às vezes mamíferos
Reprodução	Cativeiro: gestação 170 dias ☺estações quentes/chuvosas Natural: ano todo	Cativeiro: gestação 160 dias estações quentes/chuvosas Natural: ano todo	Na estação chuvosa. *+/- 7 meses
Nº filhotes	1 por ano, gêmeos são raros	1 por ano. *Gêmeos ocasionalmente	*1 por parto
Hábitos sociais	Compartilham abrigos c/ outros morcegos, limpeza social, autolimpeza, compartilha alimento	Sem informação	Compartilha abrigos com outros morcegos

Fonte: Reis, et al., 2017; *Scheffer, et al., 2015.

REFERÊNCIAS

- ALLEN H. Notes on the vampire bat (*Diphylla ecaudata*) with special reference to its relationship with *Desmodus rufus*. **Proceedings of the United States National Museum**. v. 18, p. 769–777, 1896. https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/13442/USNMP-18_1099_1896.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- ALVES, R. S., DO CANTO OLEGÁRIO, J., WEBER, M. N., SILVA, M. S., CANOVA, R., SAUTHIER, J. T., BAUMBACH, L. F., WITT, A. A., VARELA, A. P. M., MAYER, F. Q., BUDASZEWSKI, R. F., CANAL, C. W. Detection of coronavirus in vampire bats (*Desmodus rotundus*) in southern Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**. v. 69, p. 2384 – 2389, 2022. <https://doi.org/10.1111/tbed.14150>
- BATISTA, H. B. C. R.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Rabies: a brief review. **Acta Scientiae Veterinariae**. Vol. 35, n. 2, p. 125-144, 2007. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.15959>
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Raiva / Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, p. 1-108, 2008. ISBN 978-85-334-1454-9. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_diagnostico_laboratorial_raiva.pdf
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico 2009 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. 2 edição. Brasília: Mapa/ACS, p. 1-124, 2009. ISBN 978-85-99851-81-4. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/MANUAL_RAIVAHORBIVOROS2009.pdf
- DE MIRANDA, R. M.; FERREIRA-DE-BRITO, A.; SILVA, J. D. S.; XAVIER, A. D. S.; FREITAS SILVA, S. O.; ALENCAR, J.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Mosquito Fauna and Spatial Distribution in an Atlantic Forest Area in Rio de Janeiro State, Brazil, Reveal a High Risk of Transmission of Yellow Fever and Other Arboviruses **Tropical Medicine and Infectious Disease**. v. 7, n. 12, p. 410. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7120410>
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. <http://www.qmdmt.cnpm.embrapa.br/714.htm> Acesso em 16/11/2022
- FEARNSIDE, P.M. A Hidrelétrica de Teles Pires: O Enchimento e a morte de peixes. pp. 109-113. In: P.M. Fearnside (ed.) **Hidrelétricas na Amazônia: Impactos Ambientais e Sociais na Tomada de Decisões sobre Grandes Obras**. Vol. 2. Editora do INPA, Manaus. p. 297, 2015
- GREENHALL, A. M., JOERMANN, G., SCHMITH, U. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**, n. 202, p. 1-6, 1983. DOI: 10.2307/3503895. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/3503895/2600261> Acessado em 08/11/2022

GREENHALL, A. M., SCHMIDT, U., JOERMANN, G. *Diphylla ecaudata*. **Mammalian Species**. n. 227, p. 1–3, 1984.

<https://academic.oup.com/mspecies/article/doi/10.2307/3504022/2600275?login=false>

INDEA – Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso. 2022.

<http://www.indea.mt.gov.br/-/6099250-raiva-dos-herbivoros-eeb-e-scrapie?ciclo=&ordem=>

INDEA – Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso. 2022a.

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjojNGYwZDY4NWUtMGZlYy00ZGI1LWFmYjltYzI4ODZiZmM3YTMzliwidCI6IjczZTIxMzhjLWUwMzgtNDIiNy05ZTM5LTNkMDMwZDNIbMDNmOSJ9>

IPAM – Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia, 2023

<https://ipam.org.br/cartilhas-ipam/desmatamento-em-foco/>

<https://i.pinimg.com/originals/93/f7/2e/93f72ec42f881afa9d9e1e0efc3e2905.jpg>

ITO, F., BERNARD, E., TORRES, R. A. 2016. What is for Dinner? First Report of Human Blood in the Diet of the Hairy Legged Vampire Bat *Diphylla ecaudata*

Acta Chiropterologica, v. 18, n. 2, p. 509-515.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3161/15081109ACC2016.18.2.017>

URL: <http://www.bioone.org/doi/full/10.3161/15081109ACC2016.18.2.017>

JACKSON, A. C. Therapy of Human Rabies. In: JACKSON, A.C. **Rabies - Scientific Basis of the Disease and Its Management**. 3 edition. Winnipeg: Academic Press, p. 575-589, 2013.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396547-9.00016-X>

JACKSON, A. C. 2018. Rabies: a medical perspective. *Revue Scientifique et Technique* (International Office of Epizootics). v. 37, n. 2, p. 569-580.

<https://doi:10.20506/rst.37.2.2825>

MAGAÑA-COTA, G. E.; CHARRE-MEPELLÍN, J. F.; HERNÁNDEZ, R.; IGLESIAS, J.; CHÁVEZ-GALVÁN, B.; BOLAÑOS, R.; CECAIRA-RICOY, R.; SÁNCHEZ-CORDERO, V.; BOTELLO, F. Primeros registros del murciélago vampiro de pata peluda (*Diphylla ecaudata*) para el estado de Guanajuato, México. **Therya**, v. 1, n. 3, p. 213-219, Dez. 2010.

<https://www.redalyc.org/pdf/4023/402336261006.pdf>

MILLER G.S.J. The families and genera of bats. **Proceedings of the United States National Museum**. n. 57, p. 1–282, 1907.

<https://www.biodiversitylibrary.org/item/208134#page/7/mode/1up>

MMA. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade. 2019.

<http://www.mma.gov.br/biodiversidade>

MS, 2022. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS** Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis– DEIDT Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial – CGZV.

MT, 2022. <http://www.mt.gov.br/geografia>

PANAFTOSA/SPV-OPS/OMS. **Programa Regional de Rabia en Herbívoros Domésticos**. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria de la Organización Panamericana de Salud/Organización Mundial de la Salud, 2022. Disponível em:

<https://www.paho.org/es/documentos/programa-regional-americas-para-prevencion-control-rabia-transmitida-por-murcielagos>

PARANAÍTA – Prefeitura Municipal de Paranaíta, 2023.

<https://www.paranaita.mt.gov.br/O-Municipio/Historia-do-Municipio/>

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; BATISTA, C. B.; LIMA, I. P.; PEREIRA, A. D. **História Natural dos Morcegos Brasileiros: Chave de identificação de espécies**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Technical Books, 2017. p. 17-115.

ISBN 978-85-61368-55-5

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**. Londrina, 2007. p. 1-253. ISBN 978-85-906395-1-0.

[https://www.uel.br/pos/biologicas/pages/arquivos/pdf/Morcegos do Brasil.pdf](https://www.uel.br/pos/biologicas/pages/arquivos/pdf/Morcegos_do_Brasil.pdf)

ROCHA, P. A., PEDROSO, M. A., FEIJÓ, A., GURGEL FILHO, N., CAMPOS, B.A.T.P., FERRARI, E. F. Update on the distribution of *Diphylla ecaudata* Spix, 1823 (Mammalia, Chiroptera): New records from the Brazilian northeast. **Check List**, v. 10, n. 6, p. 1541-1545, 2014. DOI: 10.15560/10.6.1541

[https://www.researchgate.net/publication/269036079 Update on the distribution of Diphylla ecaudata Spix 1823 Mammalia Chiroptera New records from the Brazilian North east](https://www.researchgate.net/publication/269036079_Update_on_the_distribution_of_Diphylla_ecaudata_Spix_1823_Mammalia_Chiroptera_New_records_from_the_Brazilian_North_east)

SANTOS, T. C. M., LOPES, G. P. 2015. First record of *Diphylla ecaudata* Spix, 1823 (Phyllostomidae, Desmodontinae) for the state of Amazonas, and update on species distribution in Brazil. *Chiroptera Neotropical*. v. 21, n.2, p. 1347-1354.

[https://www.researchgate.net/publication/291329125 First record of Diphylla ecaudata Spix 1823 Phyllostomidae Desmodontinae for the state of Amazonas and update on species distribution in Brazil](https://www.researchgate.net/publication/291329125_First_record_of_Diphylla_ecaudata_Spix_1823_Phyllostomidae_Desmodontinae_for_the_state_of_Amazonas_and_update_on_species_distribution_in_Brazil)

SCHEFFER, K. C.; DE BARROS, R. F.; IAMAMOTO, K.; MORI, E.; ASANO, K. M.; ACHKAR, S. M.; ESTEVEZ GARCIA, A. I.; LIMA, J. Y. DE O.; DE OLIVEIRA, F. W. *Diphylla ecaudata* and *Diaemus youngi*, Biology and behavior. **Acta Zoológica Mexicana** (n.s.), 31(3): 436-445, 2015.

[https://www.researchgate.net/publication/317440392 Diphylla ecaudata y Diaemus you ngi Biologia y comportamiento](https://www.researchgate.net/publication/317440392_Diphylla_ecaudata_y_Diaemus_youngi_Biologia_y_comportamiento)

WHO - World Organisation for Animal Health. **WHO Expert Consultation on Rabies, third report**. WHO Technical Report Series, n. 1012, 2018. ISBN 978-92-4-121021-8 ISSN 0512-3054. Acesso em 21/07/2020.

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272364/9789241210218-eng.pdf>

WOAH – **World Organisation for Animal Health**, 2022.

<https://www.woah.org/en/disease/rabies/>

REFERÊNCIAS

- ACHKAR, S. M.; FERNANDES, E. R.; CARRIERI, M. L.; CASTRO, A. B. M.; BATISTA, A. M.; DUARTE, M. I. S.; KOTAIT, I. Sensitivity of the Immunohistochemistry technique in central nervous system fragments of cattle and horses naturally infected by rabies virus. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 211-218, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000300004>
- ALCAMI, A.; KOSZINOWSKI, U. H. Viral mechanisms of immune evasion. **Trends in Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 410-418, 2000. ISSN 0966-842X. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01830-8](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01830-8)
- APPOLINÁRIO-HARARY, C. M. **Eficácia terapêutica de RNAs de interferência (siRNAs) e avaliação da resposta imune em camundongos infectados com vírus da raiva de origem de cão e de morcego**. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu-SP, 2014. 143 p.
- BABBONI, S. D.; MODOLO, J. R. Rabies: Origin, Importance and Historical Aspects. UNOPAR Científica - **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, p. 349-356, 2011. Disponível em: <https://hdl.handle.net/11449/140925>
- BACARJI, A. G.; VILPOUX, O. F.; PARANHOS FILHO, A. C. Impacts of agrarian reform on land use in the biomes of the Midwest region of Brazil between 2004 and 2014. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 93, n. 1, 2021. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120181106>
- BATISTA, H. B. C. R.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Rabies: a brief review. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n. 2, p. 125-144, 2007. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.15959>
- BARBOSA, T. F. S.; MEDEIROS, D. B. A.; ROSA, E. S. T.; CASSEB, L. M. N.; MEDEIROS, R.; PEREIRA, A. S.; VALLINOTO, A. C. R.; VALLINOTO, M.; BEGOT, A. L.; LIMA, R. X. S.; VASCONSELOS, P. F. C.; NUNES, M. R. T. Molecular epidemiology of rabies virus isolated from different sources during a bat-transmitted human outbreak occurring in Augusto Correa municipality, Brazilian Amazon. **Virology**, v. 370, p. 228-236, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.10.005>
- BERCHE, P. Louis Pasteur, from crystals of life to vaccination. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 5, p. 1-6, 2012. <https://doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03945.x>
- BORDENAVE, G. «Louis Pasteur (1822–1895) ». **Microbes and Infection / Institut Pasteur**, v. 5, n. 6, p. 553–560, 2003. ISSN 1286-4579. [https://doi:10.1016/S1286-4579\(03\)00075-3](https://doi:10.1016/S1286-4579(03)00075-3)
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Secretaria de Defesa Sanitária Animal. **As doenças dos animais no Brasil. Histórico das primeiras observações**. Brasília:SNAP/SDSA, 1988. 101p. <https://www.gov.br/agricultura/pt->

br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-sisa/as-doencas-dos-animais-no-brasil-historico-das-primeiras-observacoes.pdf

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico 2009 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. 2 edição. Brasília: Mapa/ACS, p. 1-124, 2009. ISBN 978-85-99851-81-4. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/MANUAL_RAIVAHORBIVOROS2009.pdf

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2022. https://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/fichas_tecnicas/Ficha_Tecnica_RAIVA_final_abr20.pdf

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Raiva / Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, p. 1-108, 2008. ISBN 978-85-334-1454-9. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_diagnostico_laboratorial_raiva.pdf

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses: normas técnicas e operacionais [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, p. 1-121, 2016. ISBN 978-85-334-2239-1. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/raiva/manual-de-vigilancia-prevencao-e-controle-de-zoonoses-normas-tecnicas-e-operacionais.pdf>

BRASIL - MS. **Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS** Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis– DEIDT Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial – CGZV. 2022

BREDT, A.; ARAÚJO, F. A. A.; CAETANO JÚNIOR, J.; RODRIGUES, M. G. R.; YOSHIZAWA, M.; SILVA, M. M. S.; HARMANI, N. M. S.; MASSUNAGA, P. N. T.; BÜRER, S. P.; PORTO, V. A. R.; UIEDA, W. **Morcegos em áreas urbanas e rurais: Manual de manejo e controle**. 2 edição. Brasília: Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 1998.

CHAVES, M. E.; UIEDA, W.; BOLOCHIO, C. E.; SOUZA, C. A. I.; BRAGA, D. A.; FERREIRA, C. H.; FIRMO, C. L.; MARIANO, R. G. G. C.; OLIVEIRA, K. C. S.; SANTOS, E. G.; COSTA, F. M. Bats (Mammalia: Chiroptera) from Guarulhos, state of São Paulo, Brazil. Check List - **Journal of species lists and Distribution**, v. 8, n. 6, p. 1117–1121, 2012. <https://doi:10.15560/8.6.1117>

CHEN, L.; LIU, B.; YANG, J.; JIN, Q. DBatVir: the database of bat-associated viroses. **Database**, v. 2014, Article ID bau021, 2014.

<https://doi:10.1093/database/bau021>

CIPRANDI, A.; HORN, F.; TERMIGNONI, C. Saliva of hematophagous animals: source of new anticoagulants. **Revista Brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 25, n. 4, p. 250-262, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S1516-84842003000400012>

CONDORI-CONDORI, R. E.; STREICKER, D. G.; CABEZAS-SANCHEZ, C.; VELASCO-VILLA, A. Enzootic and Epizootic Rabies Associated with Vampire Bats, Peru. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 9, 2013.

<https://dx.doi.org/10.3201/eid1909.130083>

DAVIS, P. L.; BOURHY, H.; HOLMES, E. C. The evolutionary history and dynamics of bat rabies virus. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 6, p. 464–473, 2006.

<https://doi:10.1016/j.meegid.2006.02.007>

DBATVIR – **DataBase of Bat-Associated Viruses**. 2022. <http://www.mgc.ac.cn/cgi-bin/DBatVir/main.cgi?func=map#>

DUARTE, N. F. H.; ALENCAR, C. H.; CAVALCANTE, K. K. S.; CORREIA, F. G. S.; ROMIJN, P. C.; ARAUJO, D. B.; FAVORETTO, S. R.; HEUKELBACH, J. Increased detection of rabies virus in bats in Ceará State (Northeast Brazil) after implementation of a passive surveillance programme. **Zoonoses Public Health**, v. 67, p. 186–192, 2020. <https://DOI:10.1111/zph.12670>

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2022

<http://www.qmdmt.cnpm.embrapa.br/714.htm>

ESBÉRARD, C. E. L.; LUZ, J. L.; COSTA, L. M.; BERGALLO, H. G. Bats (Mammalia, Chiroptera) of an urban park in the metropolitan area of Rio de Janeiro, southeastern Brazil. **Iheringia - Série Zoologia**, v. 104, n. 1, p. 59-69, 2014.

<https://dx.doi.org/10.1590/1678-4766201410415969>

FENTON, M. B. 2022. Ear anatomy traces a family tree for bats. **Nature**, v. 602, p. 387-388. <https://doi:10.1038/d41586-022-00051-4>

FERNANDEZ, A. Z.; TABLANTE, A.; BEGUÍN, S.; HEMKER, H. C.; APITZ-CASTRO, R. Draculin, the anticoagulant factor in vampire bat saliva, is a tight-binding, noncompetitive inhibitor of activated Factor X. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, v. 1434, n. 1, p. 135-142, 1999.

[https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(99\)00160-0](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(99)00160-0)

FLORES-CRESPO, R. **La Rabia em las diferentes espécies, sus transmissores y su control**. 1ª ed. México-DF, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias - INIFAP, 1998. ISBN. 970-92109-0-4. Disponível em: <https://repositorio.iica.int/handle/11324/14531>

FOLEY, N. M.; HUGHES, G. M.; HUANG, Z.; CLARKE, M.; JEBB, D.; WHELAN, C. V.; PETIT, X. J.; TOUZALIN, F.; FARCY, O.; JONES, G.; RANSOME, R. D.; KACPRZYK, J.; O'CONNELL, M. J.; KERTH, G.; REBELO, H.; RODRIGUES, L.;

PUECHMAILLE, S. J.; TEELING, E. C. Growing old, yet staying young: The role of telomeres in bats' exceptional longevity. **Science Advances**, v. 4, n. 2, 2018. <https://doi:10.1126/sciadv.aao0926>

FOOKS, A. R.; BANYARD, A. C.; HORTON, D. L.; JOHNSON, N.; MCELHINNEY, L. M.; JACKSON, A. C. Current status of rabies and prospects for elimination. **Lancet**, v. 384, n. 9951, p. 1389–1399, 2014. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62707-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62707-5)

FOOKS, A. R.; CLIQUET, F.; FINKE, S.; FREULING, C.; HEMACHUDHA, T.; MANI, R. S.; MULLER, T.; NADIN-DAVIS, S.; PICARD-MEYER, E.; WILDE, H.; BANYARD, A. C. Raiva. **Nature Reviews**, v. 3, n. 17091, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.91>

FREITAS, T. A. **Caracterização antigênica e genética de cepas do vírus da raiva, circulantes no estado do Pará, no período de 2010 a 2017**. Dissertação (Mestrado em Virologia). Instituto Evandro Chagas – MS – Secretaria de Vigilância em Saúde. Ananindeua, Pará, 2018. Disponível em: <https://patua.iec.gov.br/handle/iec/3726?show=full>

FREITAS, J. F. S. **Padronização de soro antirrábico de referência utilizando o ensaio de virusneutralização em células BHK-21**. Monografia (Residência Multiprofissional em Saúde). Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/40066>

GARBINO, G. S. T.; GREGORIN, R.; LIMA, I. P.; LOUREIRO, L.; MORAS, L.; MORATELLI, R.; NOGUEIRA, M. R.; PAVAN, A. C.; TAVARES, V. C.; DO NASCIMENTO, M. C.; PERACCHI, A. L. **Updated checklist of Brazilian bats: versão 2020**. Comitê da Lista de Morcegos do Brasil-CLMB. Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (Sbeq), 2020. <https://www.sbeq.net/lista-de-especies>

GOLDSMITH, C. S.; ZAKI, S. R. Demonstration of Lyssaviruses by Electron Microscopy. *In*: RUPPRECHT, C.; NAGARAJAN, T. **Current Laboratory Techniques in Rabies Diagnosis, Research and Prevention**, San Diego: Academic Press, chap. One, v. 2, p. 5-11, 2015. <https://doi:10.1016/b978-0-12-801919-1.00001-4>

GONÇALVES, M. A. S.; SÁ-NETO, R. J.; BRAZIL, T. K. Outbreak of aggressions and transmission of rabies in human beings by vampire bats in northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 5, p. 461-464, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822002000500006>

GRACHEVA, E. O.; CORDERO-MORALES, J. F.; GONZÁLEZ-CARCACÍA, J. A.; INGÓLIA, N. T.; MANO, C.; ARANGUREN, C. I.; WEISSMAN, J. S.; JULIUS, D. Ganglion-specific splicing of TRPV1 underlies infrared sensation in vampire bats. **Nature**, v. 476, p. 88–91, 2011. <https://doi.org/10.1038/nature10245>

GREENHALL, A. M., JOERMANN, G., SCHMIDT, U. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**. n. 202. P. 1-6. 1983. <https://doi.org/10.2307/3503895>

GUPTA, P.; SINGH, M. P.; GOYAL, K.; TRIPTI, P.; ANSARI, M. I.; RAJENDRAN, V. O.; DHAMA, K.; MALIK, Y. S. Bats and viruses: a death-defying friendship. **Virus Disease**, v. 32, p. 467-479, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13337-021-00716-0>

HACKE, W.; ALBERS, G.; AL-RAWI, Y.; BOGOUSSLAVSKY, J.; DAVALOS, A.; ELIASZIW, M.; FISCHER, M.; FURLAN, A.; KASTE, M.; LEES, K. R.; SOEHNGEN, M.; WARACH, S. The Desmoteplase in Acute Ischemic Stroke Trial (DIAS): a phase II MRI-based 9-hour window acute stroke thrombolysis trial with intravenous desmoteplase. **Stroke**, v. 36, p. 66–73, 2005. <https://DOI:10.1161/01.STR.0000149938.08731.2c>

HANLON, C. A.; NADIN-DAVIS, S. A. **Laboratory Diagnosis of Rabies**. 3. edition. Canadá, Academic Press, chapter 11, p. 409-459, 2013. ISBN 9780123965479. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396547-9.00011-0>

HEINEMANN, M. B.; FERNANDES-MATIOLI, F. M. C.; CORTEZ, A.; SOARES, R. M.; SAKAMOTO, S. M.; BERNARDI, F.; ITO, F. H.; MADEIRA, A. M. B. N.; RICHTZENHAIN, L. J. Genealogical analyses of rabies virus strains from Brazil based on N gene alleles. **Epidemiology & Infection**, v. 128, p. 503–511, 2002. <https://DOI:10.1017/S095026880200688X>

HILL, J. E.; SMITH, J. D. Bats: A Natural History. In: JONES, J. K. **Journal of Mammalogy**. Univ. Texas Press: Austin, v. 66, n. 2, p. 424–425 1984. <https://doi:10.2307/1381270>

HUTCHEON, J. M.; KIRSCH, J. A. W. A moveable face: deconstructing the Microchiroptera and a new classification of extant bats. **Acta Chiropterologica**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2006. Editor: Museu e Instituto de Zoologia, Academia Polonesa de Ciências. [https://DOI:10.3161/1733-5329\(2006\)8\[1:AMFDTM\]2.0.CO;2](https://DOI:10.3161/1733-5329(2006)8[1:AMFDTM]2.0.CO;2)

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019. <https://www.ibge.gov.br/geociencias/cartas-e-mapas/informacoes-ambientais/15842-biomas.html?edicao=25799&t=acesso-ao-produto>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022. <https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/estudos-ambientais/15842-biomas.html?=&t=acesso-ao-produto>

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses, 2022 <https://ictv.global/taxonomy>

IDARON - **Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril de Rondônia**. 2022. <https://www.idaron.ro.gov.br>

INDEA – Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso. 2021. <https://www.indea.mt.gov.br/-/6099212-febre-aftosa>

INDEA – Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso. 2022. <http://www.indea.mt.gov.br/-/6099250-raiva-dos-herbivoros-eeb-e-scrapie?ciclo=&ordem=>

INSTITUTO PASTEUR – SP. <https://www.saude.sp.gov.br/instituto-pasteur/paginas-internas/vacinacao/programa-de-vigilancia-e-controle-da-raiva>

JACKSON, A. C. Raiva. *In*: POWER, C.; JOHNSON, R. T. **Neurologic Clinics**, v. 26, n. 3, p. 717-726, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2008.03.010>

JACKSON, A. C. 2010. Rabies pathogenesis update. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 1, p. 167-172, 2010. <https://doi:10.5123/S2176-62232010000100023>

JACKSON, A. C. Therapy of Human Rabies. *In*: JACKSON, A.C. **Rabies - Scientific Basis of the Disease and Its Management**. 3 edition. Winnipeg: Academic Press, p. 575-589, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396547-9.00016-X>

JACKSON, A. C.; FU, Z. F. Pathogenesis. *In*: JACKSON, A.C. **Rabies - Scientific Basis of the Disease and Its Management**. 3 edition. Winnipeg: Academic Press. p. 299-349, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396547-9.00008-0>

JOHNSON, N.; ARECHIGA-CEBALLOS, N.; AGUILAR-SETIEN A. Vampire Bat Rabies: Ecology, Epidemiology and Control. **Viruses**, v. 6, n. 5, p. 1991-1928, 2014. <https://doi:10.3390/v6051911>

JONES, G.; TEELING, E. C. The evolution of echolocation in bats. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 3, p. 149-156, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.01.001>

JONES, G.; TEELING, E. C.; ROSSITER, S. J. From the ultrasonic to the infrared: molecular evolution and the sensory biology of bats. **Frontiers in Physiology**, v. 4, n. 117, 2013. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00117>

KAKUMANU, R.; HODGSON, W. C.; RAVI, R.; ALAGON, A.; HARRIS, R. J.; BRUST, A.; ALEWOOD, P. F.; KEMP-HARPER, B. K.; FRY, B. G. Vampire Venom: Vasodilatory Mechanisms of Vampire Bat (*Desmodus rotundus*) Blood Feeding. **Toxins**, v. 11, n. 1, p. 26, 2019. <https://doi.org/10.3390/toxins11010026>

KATZ, I. S. S.; FUOCO, N. L.; CHAVES, L. B.; RODRIGUES, A. C.; RIBEIRO, O. G.; SCHEFFER, K. C.; ASANO, K. M. Delayed progression of rabies transmitted by a vampire bat. **Archives of Virology**, v. 161, p. 2561–2566, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2927-3>

KANITZ, F. A.; KOWALSKI, A. P.; BATISTA, H. B. C. R.; CARNIELI JR, P.; OLIVEIRA, R. N.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Molecular epidemiology of an outbreak of bovine rabies in central Rio Grande do Sul, Brazil, 2012. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5. pp. 834-840, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500012>

KOBAYASHI, Y.; OGAWA, A.; SATO, G.; SATO, T.; ITOU, T.; SAMARA, S. I.; CARVALHO, A. A. B.; NOCITI, D. L. P.; ITO, F. H.; SAKAI, T. Geographical distribution of vampire bat-related cattle rabies in Brazil. **Journal of Veterinary**

Medical Science, v. 68, n. 10, p. 1097-1100, 2006.

<https://dx.doi.org/10.1292/jvms.68.1097>

KOOPMAN, K. F. A Synopsis of the Families of Bats - part VII. **Bat Research News**, v. 25, n. 3/4, p. 25-29, 1984. Disponível em:

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=945841#null

KOTAIT, I.; GONÇALVES, C. A.; PERES, N. F.; SOUZA, M. C. A. M.; TARGUETA, M. C. Controle da raiva dos herbívoros – Manual técnico do Instituto Pasteur 1. São Paulo – SP. p. 15. 1998

KOTAIT, I.; CARRIERI, M. L.; TAKAOKA, N. Y. **Raiva – Aspectos gerais e clínica – Manual Técnico**, São Paulo: Instituto Pasteur, 2009, p.1-49.

LAFON, M. Subversive neuroinvasive strategy of rabies vírus. *In*: CALISHER, C. H.; GRIFFIN, D. E. **Emergence and Control of Zoonotic Viral Encephalitides**. Viena: Springer-Verlag, v. 18, 2004. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0572-6_13

LAFON, M. Modulation of the Immune Response in the Nervous System by Rabies Virus. *In*: GRIFFIN, D. E. **Role of apoptosis in infection, Current Topics in Microbiology and Immunology**. Berlin: Springer, v. 289, p. 239-258, 2005.

https://doi.org/10.1007/3-540-27320-4_11

LAFON, M. Immunology. *In*: JACKSON, A. C. **Rabies - Scientific Basis of the Disease and Its Management**. 3 edition. Winnipeg: Academic Press, p. 387-408, 2013. ISBN 9780123965479. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396547-9.00010-9>.

LAURINDO, R. S.; NOVAES, R. L. M. **Desmitificando os morcegos** – Série Cartilhas de Educação Ambiental. Monte Belo: ISMECN, 2015. ISBN: 978-85-67788-01-2. Disponível em: <https://docplayer.com.br/68402955-Serie-cartilhas-de-educacao-ambiental.html>

LEI, M.; DONG, D. Phylogenomic analyses of bat subordinal relationships based on transcriptome data. **Nature – Scientific Reports**, v. 6, n. 27726, 2016.

<https://DOI:10.1038/srep27726>

MCCRACKEN, G. F.; SAFI, K.; KUNZ, T. H.; DECHMANN, D. K. N.; SWARTZ, S. M.; WIKELSKI, M. Airplane tracking documents the fastest flight speeds recorded for bats. **Royal Society open Science**, v. 3, n. 160398, 2016.

<https://dx.doi.org/10.1098/rsos.160398>

MELLO, A. K. M.; BRUMATTI, R. C.; NEVES, D. A.; ALCÂNTARA, L. O. B.; ARAÚJO, F. S.; GASPAS, A. O.; LEMOS, R. A. A. 2019. Bovine rabies: economic loss and its mitigation through antirabies vaccination. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 39, n. 3, p. 179-185, 2019. ISSN 1678-5150. <https://doi:10.1590/1678-5150-PVB-6201>

MINOZZO, G. A.; CORONA, T. F.; DA CRUZ, E. C. R.; DE CASTRO, W. A. C.; KMETIUK, L. B.; DOS SANTOS, A. P.; BIONDO, A. W.; RIEDIGER, I. N. Novel

duplex RT-qPCR for animal rabies surveillance. **Transboundary and Emerging Diseases**, p. 1-7, 2022. <https://doi.org/10.1111/tbed.14565>

MMA/IBAMA – Ministério do Meio Ambiente / Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – **Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite**. Brasília – DF, 2011
https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/arquivos-biomas/relatorio_tcnico_monitoramento_pantanal_2008_2009_72.pdf

MMA - Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade do Cerrado e Pantanal: áreas e ações prioritárias para conservação / Ministério do Meio Ambiente – Brasília: p. 540, 2007. https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/arquivos-biomas/cerrado_pantanal-1.pdf

MMA – Ministério do Meio Ambiente, 2022.
<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/cerrado>

MORATELLI, R.; PERACCHI, A. L. Bats (Mammalia, Chiroptera) from Serra dos Órgãos National Park. *In*: CRONEMBERGER, C.; CASTRO, E. B. V. **Ciência e Conservação na Serra dos Órgãos**. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis / Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2 edição. Brasília: Ibama, 2007. Disponível em:
<https://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/cienciaeconservacaonaserradosogaosdigital.pdf>

MOREIRA, M. C. A Raiva – Estudo histórico, clínico e prophylactico. Mestrado na Escola Medico-Cirurgica do Porto. p. 1-99, 1897.

MT, 2022. <http://www.mt.gov.br/geografia>

NCBI – National Center for Biotechnology Information, 2022
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>

NOVAES, R. L. M. Morcegos neotropicais: biologia, ecologia e técnicas de coleta. **Projeto Pró-Morcegos**. Rio de Janeiro, 2008. <https://docplayer.com.br/70344734-Morcegos-neotropicais.html>

OKUMURA, A.; HARTY, R. N. Rabies virus assembly and Budding. *In*: JACKSON, A. C. **Research Advances in Rabies**. 1ª Edition. San Diego. vol. 79. p. 23-32, 2011.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00002-0>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123870407000020?via%3Dihub>

OLIVEIRA, M. S.; FROTA, F. P.; CARVALHO, M. P.; BERSANO, P. R. O.; DIAS, F. E. F.; CAVALCANTE, T. V.; SANTOS, H. D.; MINHARRO, S. Survey of Rabies in Herbivores and Humans in State of Tocantins from 1999 to 2010. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 7, n. 3, p.180-183, 2013. Disponível em:
<https://hdl.handle.net/11449/220034>

O'SHEA, T. J.; CRYAN, P. M.; CUNNINGHAM, A. A.; FOOKS, A. R.; HAYMAN, D. T.; LUIS, A. D.; PEEL, A. J.; PLOWRIGHT, R. K.; WOOD, J. L. Bat flight and zoonotic viruses. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 741-745, 2014. PMID:24750692; PMCID: PMC4012789. <https://doi:10.3201/eid2005.130539>

PACHECO, S. M.; SODRÉ, M.; GAMA, A. R.; BREDT, A.; SANCHES, E. M. C.; MARQUES, R. V.; GUIMARÃES, M. M.; BIANCONI, G. Urban bats: Knowledge Status and Action Plan for Conservation in Brazil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 1, 2010. <https://www.researchgate.net/publication/272563542>

PANAFTOSA/SPV-OPS/OMS. **Programa Regional de Rabia em Herbívoros Domésticos**. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria de la Organización Panamericana de Salud/Organización Mundial de la Salud, 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/es/documentos/programa-regional-america-para-prevencion-control-rabia-transmitida-por-murcielagos>

PEDROSO, M. A.; ROCHA, P. A.; BRANDÃO, M. V.; GARBINO, G. S. T.; MORAES, C. O.; AIRES, C. C. Filling gaps in the distribution of the white-winged vampire bat, *Diaemus youngii* (Phyllostomidae, Desmodontinae): new records for southern Amazonia. **Acta Amazonica**, v. 48, n. 2, p. 154-157, 2018.

PINHEIRO, M.; PATRÍCIO, P. M.; FAMADAS, K.; LOURENÇO, E. 2018. Morcegos (Mammalia: Chiroptera) na percepção de alunos do Ensino Médio do Município do Rio de Janeiro – A importância do Ensino de Ciências/ Biologia na conservação dos Morcegos. **Revista Brasileira de Extensão Universitária**, v. 9, n. 1, p. 7-15, 2018. <https://doi.org/10.24317/2358-0399.2018v9i1.6801>

PODLUTSKY, A. J.; KHRITANKOV, A. M.; OVODOV, N. D.; AUSTAD, S. N. A New Field Record for Bat Longevity. **The Journals of Gerontology**, v. 60 (11), p. 1366–1368, 2005. <https://doi.org/10.1093/gerona/60.11.1366>

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 1077-1083.

REDDROP, C.; MOLDRICH, R. X.; BEART, P. M.; FARSO, M.; LIBERATORE, G. T.; HOWELLS, D. W.; PETERSEN, K.; SCHLEUNING, W.; MEDCALF, R. L. Vampire bat salivary plasminogen activator (desmoteplase) inhibits tissue-type plasminogen activator-induced potentiation of excitotoxic injury. **Stroke**, v. 36, n. 6, p. 1241-1246, 2005. <https://doi:10.1161/01.STR.0000166050.84056.48>

REIS, M. C.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; FIGUEIREDO, L. J. C.; MENEZES, R. V.; FERREIRA, M. M.; SÁ, J. E. U. Clinical and epidemiologic aspects of bovine rabies diagnosed at the Bovine Clinics (Oliveira dos Campinhos, Santo Amaro, Bahia), Universidade Federal da Bahia, between January, 1990 and December, 1999 (case report). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 4, n. 1, p. 12-17, 2003. ISSN 1519 9940 <http://www.rbspa.ufba.br>

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**. Londrina, 2007. p. 1-253. ISBN 978-85-906395-1-0. https://www.uel.br/pos/biologicas/pages/arquivos/pdf/Morcegos_do_Brasil.pdf

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; BATISTA, C. B.; LIMA, I. P.; PEREIRA, A. D. **História Natural dos Morcegos Brasileiros: Chave de identificação de espécies**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Technical Books, 2017. p. 17-115. ISBN 978-85-61368-55-5

RISKIN, D.; HERMANSON, J. Biomechanics: Independent evolution of running in vampire bats. **Nature**. v. 434, 2005. <https://www.nature.com/articles/434292a.pdf>
<https://doi.org/10.1038/434292a>

ROSSETTI, V. Origem e Evolução de Morcegos. **NetNature**. 2018. <https://netnature.wordpress.com/2018/11/09/origem-e-evolucao-de-morcegos/#:~:text=Os%20morcegos%20s%C3%A3o%20mam%C3%ADferos%20placent%C3%A1rios,clado%20Megachiroptera%20e%20esses%20mam%C3%ADferos>

RUPPRECHT, C. E.; HANLON, C. A.; HEMACHUDHA, T. Rabies re-examined. **The Lancet**, v. 2, n. 6, p. 327-343, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(02\)00287-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(02)00287-6)

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular Cloning - A laboratory manual**. 3th ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SANTOS, T. C. M., LOPES, G. P. First record of *Diphylla ecaudata* Spix, 1823 (Phyllostomidae, Desmodontinae) for the state of Amazonas, and update on species distribution in Brazil. **Chiroptera Neotropical**. v. 21, n.2, p. 1347-1354, 2015. https://www.researchgate.net/publication/291329125_First_record_of_Diphylla_ecaudata_Spix_1823_Phyllostomidae_Desmodontinae_for_the_state_of_Amazonas_and_update_on_species_distribution_in_Brazil

SCAVRONI, J.; PALEARI, L. M.; UIEDA, W. 2008. Morcegos: Realidade e fantasia na concepção de crianças de área rural e urbana de Botucatu, SP. **Revista Simbio-Logias**, v. 1, n. 2, 2008. https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/educacao/morcegos_realidad_e_fantais_concepcao_crianças.pdf

SCHEFFER, K. C.; DE BARROS, R. F.; IAMAMOTO, K.; MORI, E.; ASANO, K. M.; ACHKAR, S. M.; ESTEVEZ GARCIA, A. I.; LIMA, J. Y. DE O.; DE OLIVEIRA, F. W. *Diphylla ecaudata* and *Diaemus youngi*, Biology and behavior. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 31(3): 436-445, 2015. https://www.researchgate.net/publication/317440392_Diphylla_ecaudata_y_Diaemus_youngi_Biología_y_comportamiento

SCHNEIDER, M. C.; SANTOS-BURGOA, C. A historical review of the treatment of human rabies. **Revista Saúde Pública**, v. 28, p. 454-463, 1994. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101994000600010>

SCHNELL, M. J.; MCGETTIGAN, J. P.; WIRBLICH, C.; PAPANERI, A. The cell biology of rabies virus: using stealth to reach the brain. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, p. 51–61, 2010. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2260>

SILES, L.; PEÑARANDA, D.; PÉREZ-ZUBIETA, J. C.; BARBOZA, K. Los murciélagos de la ciudad de Cochabamba. *Revista Boliviana de Ecología y Conservación Ambiental*. Vol. 18, p. 51-64. 2005.
https://www.researchgate.net/publication/237144065_Los_murcielagos_de_la_ciudad_de_Cochabamba

SIMMONS, J. A.; AUGER, G. J. 2021. Bat biosonar signals. *The Journal of the Acoustical Society of America*, v. 149, n. 2, 2021.
<https://doi.org/10.1121/10.0003428>

SIMMONS, N. B.; GEISLER, J. H. Relationships of eocene bats. *Bulletin american museum of natural history*. vol. 235, p. 1-182. 1998.
<https://archive.org/details/bulletin-american-museum-natural-history-235-001-182>

SMITH, I.; WANG, L. Bats and their virome: an important source of emerging viruses capable of infecting humans. *Current Opinion in Virology*, v. 3, p. 84–89, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.006>

SINGH, R.; SINGH, K. P.; CHERIAN, S.; SAMINATHAN, M.; KAPOOR, S.; REDDY, G. B. M.; PANDA, S.; DHAMA, K. Rabies – epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, v. 37, n. 1, p. 212-251, 2017.
<https://doi:10.1080/01652176.2017.1343516>

SOARES, R. M.; BERNARDI, F.; SAKAMOTO, S. M.; HEINEMANN, M. B.; CORTEZ, A.; ALVES, L. M.; MEYER, A. D.; ITO, F. H.; RICHTZENHAIN, L. J. A Heminested Polymerase Chain Reaction for the detection of Brazilian rabies isolates from vampire bats and herbivores. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz*. v. 97, n. 1, p. 109-111, 2002.

SPRINGER, M. S.; TEELING, E. C.; MADSEN, O.; STANHOPE, M. J.; JONG, W. W. Integrated fossil and molecular data reconstruct bat echolocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 98, n. 11, p. 6241-6246, 2001.
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=945840#null

SPRINGER, M. S. Phylogenetics: Bats United, Microbats Divided. *Current Biology*, v. 23, n. 22, p. R999-R1001, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.053>

STEELE, J. H.; FERNANDEZ, P. J. History of rabies and global aspects. *In*: BAER, G. M. **The natural history of rabies**. 2^a ed. Boca Raton: CRC Press, 1991. ISBN 0-8493-6760-3.

TEIXEIRA, D. M.; PAPAVERO, N. Uma breve história dos morcegos vampiros (Chiroptera, Phyllostomidae, Desmodontinae) no Brasil colônia. *Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo – Arquivos de Zoologia*. Vol. 43, n. 2, p. 109-142. 2012. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7793.v43i2p109-142>

TEIXEIRA, A. E.; ROCHA, V. J. **Levantamento da Chiropterofauna em área urbana no município de Araras, São Paulo**. FOCO, n. 4, 2013.

Disponível em: <https://revistafoco.inf.br/index.php/FocoFimi/article/view/21>

TEIXEIRA, L. A. **Ciência e Saúde na terra dos bandeirantes: a trajetória do Instituto Pasteur de São Paulo no período 1903 – 1916 [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1995. 180 p. ISBN 85-85676-14-0. Available from SciELO Books <http://books.scielo.org>

TEIXEIRA, L. H. M.; TOMAZ, L. A. G.; LINHARES, G. F. C.; SANTOS, M. F. C.; JAYME, V. S. Space-Time distribution of Laboratory Diagnosis of animal Rabies. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 1, 2015. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v16i131282>

TEIXEIRA, P. G. **O hábito alimentar dos morcegos (Mammalia, Chiroptera) e sua relação com a diversidade viral**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas. Brasília, 2016. p. 120. <https://educapes.capes.gov.br/handle/capes/623452>

THOULOZE, M. I.; LAFAGE, M.; YUSTE, V. J.; KROEMER, G.; SUSIN, S. A.; ISRAEL, N.; LAFON, M. Apoptosis inversely correlates with Rabies Virus Neurotropism. **ANNALS of the New York Academy of Sciences**, n. 1010, p. 598-603, 2003. <https://doi:10.1196/annals.1299.112> Acessado em 19/04/2020.

UIEDA, W. The common vampire bat in urban environments from Southeastern Brazil. **Chiroptera neotropical**, v. 1, n. 2, p. 22-24, 1995.

VOS, A.; NUNAN, C.; BOLLES, D.; MULLER, T.; FOOKS, A. R.; TORDO, N.; BAER, G. M. The occurrence of rabies in pre-Columbian Central America: an historical Search. **Epidemiology & Infection**, v. 139, p. 1445–1452, 2011. <https://doi:10.1017/S0950268811001440>

WHO - Expert committee on rabies: eighth report. Technical report series 824. Geneva, WHO. 1992
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39308/WHO_TRS_824_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

WHO - World Organisation for Animal Health. **WHO Expert Consultation on Rabies, third report**. WHO Technical Report Series, n. 1012, 2018. ISBN 978-92-4-121021-8 ISSN 0512-3054. Acesso em 21/07/2020.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272364/9789241210218-eng.pdf>

WHO - **World Organisation for Animal Health**, 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies> Acessado em: 12/09/2022

WILLE, M. Unravelling virus community ecology in bats through the integration of metagenomics and community ecology. **Molecular Ecology**, v. 29, p. 23–25, 2020. <https://doi.org/10.1111/mec.15306>

WOAH – **World Organisation for Animal Health**, 2022.
<https://www.woah.org/en/disease/rabies/>

WUNNER, W. H. Rabies. *In*: SCHMIDT, T. M. **Encyclopedia of Microbiology**. 4 Edition. Academic Press, 2014, p. 1-19. ISBN 9780128117378
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.02517-4>

WUNNER, W. H.; BRIGGS, D. J. Rabies in the 21st Century. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 3, e591, 2010.
<https://doi:10.1371/journal.pntd.0000591>

WUNNER, W. H.; CONZELMANN, K. K. Rabies virus. *In*: JACKSON, A. C. **Rabies - Scientific Basis of the Disease and Its Management**. 3 edition. Winnipeg: Academic Press, p. 17-60, 2013.
<https://doi:10.1016/b978-0-12-396547-9.00002-x>

ANEXOS

ANEXO A – AUTORIZAÇÃO SISBIO - ICMBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 69199-6	Data da Emissão: 08/08/2022 12:08:01	Data da Revalidação*: 01/04/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: MARIA FERNANDA ARANEGA PIMENTEL		CPF: 694.094.049-91
Título do Projeto: Solicitação para captura de espécimes da Ordem Chiroptera em cavernas e fontes de alimentação nos municípios do Estado de Mato Grosso.		
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal de Mato Grosso		CNPJ: 33.004.540/0001-00

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura de morcegos	07/2019	07/2021
2	Captura de morcegos, coleta de amostras	07/2021	11/2022
3	Captura de morcegos e coleta de amostras	05/2022	05/2023

ANEXO B – AUTORIZAÇÃO SEMA

Superintendência de Mudanças Climáticas e Biodiversidade - SUBIO

OFÍCIO Nº: 147011/CFRP/SUBIO/2019

Cuiabá - MT , 23 de agosto de 2019

Assunto: Licença Especial para Manejo de Fauna

Informamos que o Processo sob o Protocolo nº 348628/2019, referente ao Projeto de Pesquisa "GENOTIPAGEM DE AMOSTRAS POSITIVAS PARA RAIVA ISOLADOS EM MT E IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE MICROORGANISMOS E PARASITAS ENCONTRADOS EM MORCEGOS DOS BIOMAS DO ESTADO DE MATO GROSSO", encontra-se na Coordenadoria de Fauna e Recursos Pesqueiros e conforme análise e entendimento sobre os Procedimentos Operacionais Padrão adotados por esta Coordenadoria e segundo entendimento do CECAV/ICMBio, em texto baseado na Instrução Normativa nº 3, de 1º de setembro de 2014, do Instituto Chico Mendes publicado em seu site, que diz:

"Qualquer projeto de pesquisa ou atividade didática (no âmbito do ensino superior) que envolva coleta, transporte ou captura de material biológico, paleontológico, arqueológico ou geológico dentro de cavidade natural subterrânea deve ser submetido ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO, para a obtenção de autorização."

Citação retirada de:

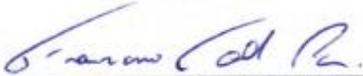
(<http://www.icmbio.gov.br/cecav/orientacoes-e-procedimentos/pesquisa-cientifica.html>).

Entendemos, desta forma, que o Projeto em pauta já possui autorização válida e ativa (Autorização SISBIO n.º 69199-1) com cópia apresentada nas folhas 25 a 30 do Processo nº 348628/2019, e concluímos que, neste caso, não há a necessidade da emissão de outra autorização.

De qualquer forma, informaremos os setores de Fiscalização da SEMA e do Ministério Público Estadual para conhecimento do Projeto em pauta.

Em caso de dúvidas, entrar em contato com a Coordenadoria pelo e-mail faunaepesca@sema.mt.gov.br ou pelo telefone 0800 647 0111.

Atenciosamente,



Francisco Tadeu Paroli
Analista de Meio Ambiente
CFRP/SEMA



Cristiano Henrique da Silva Justino
Coordenador de Fauna e Recursos Pesqueiros
CFRP/SEMA

ANEXO C – CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA – CEUA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo Nº 23108.059114/2019-81 sobre “Genotipagem de amostras positivas para Raiva isoladas de MT e identificação molecular de microrganismos patogênicos e parasitas encontrados em morcegos dos biomas do estado de Mato Grosso”, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Luciano Nakazato**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)-UFMT em reunião ordinária de 30 de agosto de 2019.

CERTIFICATE

We certify that the protocol 23108.059114/2019-81, entitled “Genotyping of rabies-positive samples isolated in MT and molecular identification of pathogenic and parasitic microorganisms found in bats of the biomes of the state of Mato Grosso.”, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in the Use of Animals (Federal University of Mato Grosso – UFMT) on August 30, 2019.

Número de animais experimentados: 700

Number of experimented animals: 700

Cuiabá-MT, 30 de agosto de 2019.


Prof. Dr. Daniel Moura de Aguiar
Presidente


Prof. Dra. Arleana do Bom Parto Ferreira de Almeida
Vice-Presidente

ANEXO D – AUTORIZAÇÃO IDARON

SEI/ABC - 0024537106 - Autorização

https://sei.sistemas.ro.gov.br/sei/controlador.php?acao=documento_impr...

GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA
 Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia - IDARON

AUTORIZAÇÃO

Em atenção ao Memorando 6 (0024234559), AUTORIZO, na forma da lei, que a Médica Veterinária **Maria Fernanda Aranega Pimentel**, funcionária do INDEA-MT - Ule de Acorizal e doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso UFMT/Campus de Cuiabá, utilize em sua pesquisa, os resultados de amostras para Raiva que foram para análise no LASA (Laboratório de Apoio à Saúde Animal), oriundas do município de Parecis - RO, Fazenda Mococa - de propriedade do Sr Moacir Somaggio.

Encaminhamos à COTEC para as providências cabíveis.

JULIO CESAR ROCHA PERES
 Presidente da Agência IDARON
 Matrícula funcional 300044798



Documento assinado eletronicamente por **JULIO CESAR ROCHA PERES, Presidente**, em 14/03/2022, às 09:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no artigo 18 caput e seus §§ 1º e 2º, do [Decreto nº 21.794, de 5 Abril de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [portal do SEI](#), informando o código verificador **0024537106** e o código CRC **135B0F78**.

Referência: Caso responda este(a) Autorização, indicar expressamente o Processo nº 0015.068414/2022-91

SEI nº 0024537106