

RITA

XXVII
2016
Belém
Pará-Brasil



Reunião Internacional de Raiva nas Américas
Rabies in the Americas International Meeting
Reunión Internacional de Rabia en las Américas

23 a 28 de outubro
October 23rd to 28th
23 a 28 de octubre

Presidente da República
Michel Miguel Elias Temer Lulia

Ministro da Saúde
Ricardo Barros

Secretário de Vigilância em Saúde
Adeilson Loureiro Cavalcante

Instituto Evandro Chagas

Diretor
Pedro Fernando da Costa Vasconcelos

Vice-Diretor
Fernando Tobias Silveira

Centro Nacional de Primatas

Diretora
Ananda Krishna de Moraes Ramos

**XXVII Reunião Internacional de
Raiva nas Américas**

**XXVII Rabies in the Americas
International Meeting**

**XXVII Reunión Internacional de
Rabia en las Américas**

23 a 28 de outubro de 2016

October 23rd to 28th, 2016

23 a 28 de octubre de 2016

**XXVII Reunião Internacional de
Raiva nas Américas**

**XXVII Rabies in the Americas
International Meeting**

**XXVII Reunión Internacional de
Rabia en las Américas**

23 a 28 de outubro de 2016

October 23rd to 28th, 2016

23 a 28 de octubre de 2016

**LIVRO DE RESUMOS
BOOK OF ABSTRACTS
LIBRO DE RESÚMENES**

Preliminar / Preliminary / Preliminar



Ananindeua
2016

EQUIPE DE PRODUÇÃO

Dóris Corrêa	Supervisão Editorial (NED)
Fabrcio Bezerra	Projeto Gráfico e Diagramação (NED)
Capa	Adlai Sousa (ASCOM)

Nota: Este Livro de Resumos tem caráter preliminar, não tendo passado por revisão textual. Portanto, os conceitos e a redação contidos nos trabalhos são de exclusiva responsabilidade de seus autores.

Note: This book is a preliminary version without reviewing text, therefore the concepts and the writing contained in the work are the sole responsibility of their authors.

Nota: Este Libro de Resúmenes tiene un carácter preliminar, no habiendo pasado por revisión textual. Por lo tanto, los conceptos y la redacción contenidos en los trabajos son de exclusiva responsabilidad de sus autores.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP) BIBLIOTECA DO INSTITUTO EVANDRO CHAGAS

R444I Reunião Internacional de Raiva nas Américas (27.: 2016: Ananindeua, PA).

Livro de Resumos da XXVII RITA: Reunião Internacional de Raiva nas Américas
Ananindeua: IEC, 2016.

347 p.

1. Raiva. 2. Vigilância Epidemiológica. I. Título.

CDD: 616.953

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS/SVS/MS

Núcleo Editorial (NED)
Rodovia BR-316, km 7, s/n. Bairro: Levilândia
CEP: 67030-000 – Ananindeua–Pará–Brasil
Tel.: +55 (91) 3214-2181
<http://www.iec.pa.gov.br> – editora@iec.pa.gov.br

COMISSÃO CIENTÍFICA / SCIENTIFIC COMMITTEE / COMISIÓN CIENTÍFICA

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos - Presidente

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Belém, Pará, Brasil

Alberto Lopes Begot

Núcleo de Doenças Endêmicas do Estado do Pará/SESPA
Belém, Pará, Brasil

Alexandre do Rosário Casseb

Universidade Federal Rural da Amazônia
Instituto da Saúde e Produção Animal
Belém, Pará, Brasil

Eduardo Pacheco de Caldas

Unidade Técnica de Vigilância de Zoonoses – CGDT/DEVIT/SVS/Ministério da Saúde
Brasília, Distrito Federal, Brasil

Elizabeth Salbê Travassos da Rosa

Instituto Evandro Chagas /SVS/MS
Belém, Pará, Brasil

Elvira Catarina Valente Colino

Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará - ADEPARÁ
Belém, Pará, Brasil

Graciane Maria Medeiros Caporale

Instituto Pasteur - Secretaria de Estado da Saúde
São Paulo, São Paulo, Brasil

Gustavo Trindade Henriques Filho

Hospital Universitário Oswaldo Cruz - Universidade de Pernambuco
Recife, Pernambuco, Brasil

Ivanete Kotait

Venco Saúde Animal
Londrina, Paraná, Brasil

Jane Megid

UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Botucatu, São Paulo, Brasil

Juliana Galera Castilho

Instituto Pasteur - Secretaria de Estado da Saúde
São Paulo, São Paulo, Brasil

Livia Medeiros Neves Casseb

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Belém, Pará, Brasil

Maria Luiza Carrieri

Instituto Butantan - Secretaria de Estado da Saúde
São Paulo, São Paulo, Brasil

Neuza Maria Frazatti Gallina

Instituto Butantan - Secretaria de Estado da Saúde
São Paulo, São Paulo, Brasil

Paulo Michel Roehle

Laboratório de Virologia/Dep de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia
Instituto de Ciências Básicas da Saúde/Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Reynaldo José da Silva Lima (*in memoriam*)

Núcleo de Doenças Endêmicas do Estado do Pará/SESPA
Belém, Pará, Brasil

Rita Catarina Medeiros

Universidade Federal do Pará
Belém, Pará, Brasil

Rosely Cerqueira de Oliveira

Academia de Medicina de Brasília
Brasília, Distrito Federal, Brasil

Taciana Fernandes Souza Barbosa Coelho

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS,
Belém, Pará, Brasil

**COMISSÃO CIENTÍFICA INTERNACIONAL /
INTERNATIONAL SCIENTIFIC COMMITTEE / COMISIÓN
CIENTÍFICA INTERNACIONAL**

President - Ivanete Kotait

Venco Saúde Animal
Londrina, Paraná, Brasil

Vice-President - Richard B. Chipman

USDA-APHIS Wildlife Services
Concord, New Hampshire, USA

Treasurer - Laura E. Robinson

Texas Department of State Health Services
Austin, Texas, USA

Secretary - Christine Fehlner-Gardiner

Canadian Food Inspection Agency
Ottawa, Ontario, Canada

Alan C. Jackson

University of Manitoba Health Sciences Centre
Winnipeg, Manitoba, Canada

Charles Rupprecht / Professor (Adjunct)

The Wistar Institute
Philadelphia, Pennsylvania, USA

Dennis Donovan

Ontario Ministry of Natural Resources
Peterborough, Ontario, Canada

Jane Megid

UNESP-Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Botucatu, São Paulo, Brasil

Juan Antonio Montaña Hirose

Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal / SENASICA
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
Tecámac, Estado de México, México

Rosely Cerqueira de Oliveira

Academia de Medicina de Brasília
Brasília, Distrito Federal, Brasil

Verónica Gutiérrez Cedillo

Subdirección de Zoonosis / CENAPRECE / Secretaría de Salud
México, Distrito Federal, México

Ex-officio Member: Luis Lecuona

USDA International Services
México, Distrito Federal, México

Emeritus Members:

Susan Nadin-Davis

Chris Nunan

Dennis Slate

Roly Tinline

Fernando Vargas Pino

Alex Wandeler

COMISSÃO ORGANIZADORA / ORGANIZING COMMITTEE / COMISIÓN ORGANIZADORA

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos / Presidente

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Ananindeua, Pará, Brasil

Elizabeth Salb  Travassos da Rosa / Coordenadora

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Ananindeua, Pará, Brasil

Livia Medeiros Neves Casseb / Vice-Coordenadora

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Ananindeua, Pará, Brasil

Armando de Souza Pereira

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Ananindeua, Pará, Brasil

Eduardo Pacheco de Caldas

UVZ/CGDT/DEVIT/SVS/Ministério da Saúde
Brasília, Distrito Federal, Brasil

Ivanete Kotait

Venco Saúde Animal
Londrina, Paraná, Brasil

Jane Megid

UNESP-Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, São Paulo, Brasil

Rita Catarina Medeiros

Universidade Federal do Paraná
Belém, Paraná, Brasil

Rosely Cerqueira de Oliveira

Academia de Medicina de Brasília
Brasília, Distrito Federal, Brasil

Taciana Fernandes Souza Barbosa Coelho

Instituto Evandro Chagas/SVS/MS
Ananindeua, Paraná, Brasil

Assessoria de Comunica o / Instituto Evandro Chagas (ASCOM/IEC):

Kelvin Santos de Souza
Nelson Duarte Faro Junior
Inaiara Iris dos Santos Araújo

Setor de Informática / Instituto Evandro Chagas (SOINF/IEC):

Carolina Rodrigues da Costa
Marcos Felipe Carvalho Nazário
José Flávio de Souza D s Júnior

SUMÁRIO / SUMMARY / SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO / INTRODUCTION / PRESENTACIÓN	17
PRÊMIO GEORGE BAER DE JOVEM PESQUISADOR / GEORGE BAER LATIN AMERICAN INVESTIGATOR AWARD / PREMIO GEORGE BAER DEL JOVEN INVESTIGADOR	21
Spatial expansions and travelling waves of rabies in vampire bats in Peru	23
SESSÃO 1 – Raiva Humana, Profilaxia e Tratamento / Human Rabies, Prophylaxis and Treatment / Rabia humana, Profilaxis y Tratamiento	25
Barriers to innovation in human rabies prophylaxis and treatment: a causal analysis of insights from key opinion leaders and literature.....	27
Estudo de casos de raiva humana ocorridos no Brasil e países da América do Sul, com enfoque para áreas de fronteiras, período 2010 a 2015.....	29
Health care seeking behaviors of persons potentially exposed to <i>Rabies virus</i> after intervention.....	31
Efficacy of human monoclonal antibodies (CL 184) against diverse bat <i>Rabies virus</i> variants in a hamster mode	33
Implementación de profilaxis post-exposición antirrábica human en Haití.....	35
Characterization and prophylaxis after exposure to human rabies in eastern Amazon, State of Pará, Brazil between 2000 and 2014	36
SESSÃO 2 – Patogenia e Imunologia / Pathogenesis and Immunology / Patogénesis e Inmunología	39
Substitution of genes from a street <i>Rabies virus</i> changes the pathogenicity and proliferation capacity of hep-flury-based chimeric viruses.....	41
Ambiguous role of IL-23 in infection by <i>Rabies virus</i> : maintenance of the Th17 profile or interference in the establishment of the Th1 profile.....	43
Effects of bufotenine on mice infected with <i>Rabies virus</i> : an <i>in vivo</i> study	45
Gene expression profile induced by two different variants of street <i>Rabies virus</i>	47
Neuroinvasividade, neurovirulência e neuropatogenicidade do vírus fixo CVS/31 e das variantes de rua do vírus da raiva (RABV) em modelo murino de neuroinfecção.....	49
Imunopatologia experimental do vírus da raiva, com as variantes antigênicas 2 e 3	51
SESSÃO 3 – Epidemiologia e Vigilância / Epidemiology and Surveillance / Epidemiología y Vigilancia	53
Geographic visualization of rabies surveillance data in the United States, 2014.....	55
SIRVERA: atualização para melhoria da qualidade de informação sobre raiva nas Américas.....	56
Dynamics of rabies in the Caribbean	58
Vigilância da raiva no município de Fortaleza, Ceará - desafios e perspectivas.....	60
Surveillance to establish elimination of transmission and freedom from dog mediated rabies.....	62
SESSÃO 4 – Epidemiologia Molecular / Molecular Epidemiology / Epidemiología Molecular	65
Host-pathogen evolutionary signatures reveal dynamics and future invasions of vampire bat rabies ..	67
Caracterização molecular do genoma completo de cepas das variantes antigênicas 2 e 3 do vírus da raiva isoladas na Amazônia Brasileira	69
Complete genomes of eight Brazilian lineages of <i>Rabies virus</i>	71
Descrição espaço-temporal de rbdovirus (<i>Lyssavirus</i> , <i>Rhabdoviridae</i>) na América do Sul – breves aspectos filogeográficos	73

SESSÃO 5 – Raiva em Animais Domésticos / Rabies in Domestic Animals / Rabia en Animales Domésticos	75
Reintroducción de rabia canina en Arequipa, Perú: retos y lecciones para la respuesta	77
The influence of urban structures on free-roaming dog ecology in Arequipa, Peru	78
Socio-spatial vaccine uptake patterns associated with vaccination tent location in Arequipa, Peru ...	80
Utilizing the stepwise approach toward rabies elimination in Guatemala	82
Laboratory surveillance of canine rabies in Mexico performed at Indre (2008-2016)	84
Haiti as a case example for the importance of understanding dog populations to plan effective rabies vaccination programs	86
Could we see an end to human deaths from canine rabies by 2030?	88
SESSÃO 6 – Raiva em Animais Silvestres / Wildlife Rabies / Rabia Silvestre	89
Incidência de raiva em morcegos insetívoros e a relação com cuidado parental, município de São Paulo, Brasil	91
Studies on bait preference and acceptance in european wolves (<i>Canis lupus lupus</i>).....	92
Vigilância da raiva silvestre no estado do Amazonas – 2010 a 2016	93
Epidemiología de la rabia en Chile 2005-2015	95
Risk modeling of skunk distribution as a proxy to rabies spread in southeastern Arizona, USA	97
An evaluation of two ORV strategies targeting raccoons in suburban habitats in the US.....	99
SESSÃO 7 – Diagnóstico / Diagnostic / Diagnóstico	101
Comparison of rapid sampling techniques for rabies diagnostic by pan-Rabies TaqMan real-Time RT-PCR	103
Development of a high-throughput <i>Rabies virus</i> neutralization assay based on green fluorescent protein (GFP) expression	105
Evaluation of a quality management system for rabies testing.....	106
Evaluations of rabies DFA inconclusive samples using pan-Rabies real-time RT-PCR assay LN34	107
Evaluation of the rapid fluorescent focus inhibition test to support rabies vaccine development.....	109
Intravenous immunoglobulin therapy confounds an ante-mortem diagnosis of human rabies in the United States.....	111
SESSÃO 8 – Vacinas e Controle de Vacinas / Vaccines and Vaccine Control / Vacunas y Control de Vacunas	113
Persistence of <i>Rabies virus</i> -neutralizing antibodies after vaccination of rural population following vampire bat rabies outbreak in Augusto Correa, Pará, Brazil	115
Rabies veterinary vaccine manufactured in Brazil. Control tests and strains analysis	117
Rabies vaccine stability testing: viral particle counting by nanoparticle tracking analysis and antigenicity measured by ELISA reflect <i>in vivo</i> nih potency.....	119
Bait acceptability and – handling of dogs in Navajo Nation (USA)	121
Industrial production of veterinary vaccine using cell culture in perfusion system	123
Consistent production of a chromatographically purified vero cell rabies vaccine	125
Desarrollo de vectores no replicativos para la expresión <i>in vivo</i> de la proteína G del virus rábico, como estrategia para la obtención de vacunas.....	127
SESSÃO DE PÔSTER I / POSTER SESSION I / SESIÓN POSTER I	129
A importância da filogeografia para o estudo do vírus da raiva isolado de morcegos insetívoros em diferentes regiões do Brasil	131
Accidentes por mordedura canina em pacientes atendidos en el “Centro de Salud Control Zoonosis de Lima” durante el periodo 2010-2016	133

Ações integradas de controle da raiva no estado do Ceará, nos últimos 10 anos	134
Análise da distribuição espacial dos postos da campanha de vacinação contra raiva animal da região de Ermelino Matarazzo, São Paulo/SP, no ano de 2013.....	136
Análise das notificações de atendimento antirrábico humano no estado de Goiás no período de 2013 a 2016	137
Análise descritiva da oportunidade da vigilância da raiva em São João da Boa Vista, SP, Brasil.....	139
Análise do tratamento indicado nos acidentes por morcego nos municípios da 10ª região de saúde de Limoeiro do Norte/CE, de 2013 a 2015	141
Análise epidemiológica dos atendimentos antirrábicos no município de Maracanaú, Ceará, Brasil	143
Analysis of bat attacks in a vulnerable human population in eastern Amazon, Pará, Brazil between 2013 and 2015.....	145
Apenas uma pergunta: como uma simples indagação influenciou a taxa de vacinação contra raiva na região central do estado de Rondônia	147
Associação entre sintomatologia, resposta imune humoral e distribuição do vírus da raiva em animais de experimentação.....	149
Ataque de morcegos hematófagos a comunidade de ponte do Gravatá, Araçuaí/MG, 2013	151
Avaliação da exposição humana ao vírus rábico pelo contato com morcegos, Paraná, 2009-2014....	153
Avaliação do conhecimento da população sobre a percepção de risco para a raiva, estudo de caso realizado no bairro CPA I, município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil, período de 2009 a 2013.....	155
Avaliação sorológica de cães e gatos recontactantes de morcegos como método alternativo a revacinação contra raiva	157
Campanhas antirrábicas no Brasil e sua importância para o controle da raiva canina pela variante O1 e O2.....	159
Caracterização genética e antigênica de linhagens do vírus da raiva (RABV) isoladas de diferentes reservatórios Brasileiros	161
Controle da população de morcegos hematófagos no estado do Piauí, no período de janeiro de 2012 a julho de 2016.....	163
Diretrizes para o planejamento e gerenciamento estratégico do controle da situação endêmica de morcegos urbanos	165
Epidemiological analysis of <i>Rabies virus</i> isolated from canids in north and northeast Brazil.....	167
Estratégias para melhoria da prevenção e controle da raiva no município de Maracanaú, Ceará.....	168
Estudo descritivo dos acidentes causados por animais com potencial de transmitir raiva. Brasil, 2009 a 2013	170
Estudo do perfil epidemiológico do atendimento antirrábico e seu impacto na saúde pública no estado do Ceará, no período de 2007 a 2016.....	172
Estudo molecular do vírus da raiva em bovinos no estado de Pernambuco, Brasil	174
Evaluation of human anti-rabies call notification in period 2000-2015 in the State of Pará, Brazil ..	176
Gobernanza en el área andina para la eliminación de la rabia humana transmitida por perros y control y prevención de la rabia transmitida por el murcielago hematofago (<i>Desmodus rotundus</i>)	178
Human aggressions by dogs: motivations and circumstances in São Paulo city, Brazil.....	180
Identification of different species of mammals involved in zoonoses as reservoirs or hosts by sequencing of the mitochondrial DNA Cytochrome B gene.....	182
<i>In vitro</i> antiviral activity of <i>Dalbergia variabilis</i> Vogel against different genetic lineages of <i>Rabies virus</i>	184
Índice de agregação e dispersão da distribuição espacial das agressões de cães e gatos a humanos ..	186
Inhibition of receptor signaling by <i>Rabies virus</i> surface glycoprotein peptides in <i>C. elegans</i>	188
Mapeamento de abrigos de morcegos hematófagos no estado do Piauí trabalhados no período de janeiro de 2012 a julho de 2016	190
Panorama epidemiológico da raiva no estado do Ceará – Brasil	192

Pathogenicity of <i>Rabies virus</i> isolated from different Brazilian reservoirs.....	194
Perfil dos atendimentos antirrábicos humanos, Amazonas, 2011-2015.....	195
Perfil epidemiológico das agressões por animais domésticos e silvestres na 10ª região de saúde/ Limoeiro do Norte-CE, no período de 2011 a 2016	197
Plano de ação de vigilância e controle da raiva urbana e silvestre na fronteira Maranhão e Pará.....	199
Profile anti-rabies human service for bats's attacks between 2000 and 2015 in the State of Pará Brazil	201
Rabies in Canada – 2015.....	203
Rabies pre-exposure vaccination practices among at risk persons.....	205
Rabies seropositivity in free-ranging wild animals and cerdocyon thous: are these animals sentinels for rabies?	207
Raiva em <i>Felis catus</i> : linhagem genética compatível com vírus de canídeo silvestre.....	209
Sequencing and phylogenetic analyses of the nucleoprotein gene of <i>Rabies virus</i> isolated from cattle in southern Brazil.....	211
Situação epidemiológica da agressão por morcegos em humanos nos municípios de Viseu, Augusto Corrêa e adjacências, região do nordeste paraense, no período de 2000 a 2015	212
Situação epidemiológica da raiva no estado do Pará. 1995-2015	214
Study of the neuroinvasiveness of the <i>Rabies virus</i> in samples of central nervous system of cattle....	216
Taxa de mortalidade da raiva em herbívoros domésticos atendidos pela adab em propriedades foco no estado da Bahia no período de 2006 a 2015	218
The ectodomain of <i>Rabies virus</i> G determines dendritic cells activation while the cytoplasmic tail the level of G expression	219
Utilização do georreferenciamento de abrigos de morcegos e propriedades rurais como ferramenta para ações de vigilância e prevenção da raiva dos herbívoros no estado do Paraná	220
Validation of the rapid fluorescent focus inhibition test to measure <i>Rabies virus</i> neutralizing antibodies.....	222
Vigilância de cães e gatos contactantes de morcegos em Campinas-SP.....	224
Wildlife mammals incidents - a urban risk?	226
SESSÃO DE PÔSTER II / POSTER SESSION II / SESIÓN POSTER II	229
A modified delphi approach to outline strategies for raccoon rabies elimination.....	231
Ações de vigilância e controle da raiva diante de caso positivo em felino no município de Campinas, SP, Brasil.....	233
Ações integradas no controle da raiva silvestre no estado do Ceará/Brasil	235
Acompanhamento pelo serviço veterinário oficial de foco de raiva em herbívoros em Fortaleza, Ceará	237
Alcohol-based tissue fixation as an alternative to histopathological and immunohistochemical studies of bovine rabies.....	239
An extended validation of the new pan- <i>Lyssavirus</i> TaqMan real-time RT-PCR assay at multiple laboratories for the diagnosis of rabies.....	240
Analysis of accidents with primates in the State of Rio Grande do Sul, 2007 - 2016.....	242
Analysis of bats captured in the state of Paraná (Brazil) between 2009 and 2014: species, location of capture, behavior.....	244
Analysis of <i>Rabies virus</i> circulating in bats species in Nuevo Leon Mexico	245
Animal welfare: the 3R's applied to rabies across the years	247
Aplicativo de coleta e entrada de dados a partir de dispositivos móveis para notificação de doenças no campo.....	249

Assessment of potential wildlife rabies reservoirs in Haiti, 2015 to present: an ongoing study	251
Avaliação da vigilância da raiva em quirópteros em área urbana no estado do Ceará, 2003-2016	252
Circulação do vírus da raiva em morcegos não hematófagos na área urbana do município de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil	254
Co-circulation of rabies and Zika virus in peridomestic neotropical primates from Ceará State, Brazil....	256
Comparison of the brain collection techniques and evaluation of the spinal cord and mixed brain tissues as specimen for rabies diagnosis	258
Desafios no diagnóstico de raiva em equinos: relato de caso	260
Detection of <i>Rabies virus</i> nucleoprotein by mass spectrometry in clinical samples	262
Diagnóstico da raiva em quirópteros no estado do Ceará.....	263
Epidemiological surveillance and serological profile of <i>Desmodus rotundus</i> bat captured from places with or without herbivorous rabies report and maintained in captivity	265
Epizootia de raiva em canídeos silvestres, CE, Nordeste, Brasil	267
Epizootia de raiva em herbívoros no município de Aurora, Ceará, Brasil	269
Epizootia de raiva em morcegos no município de Limoeiro do Norte/CE, em 2015.....	271
Estatus y perspectivas de la regulación jurídica de la esterilización de perros y gatos en México	273
Evaluation of long-term protective efficacy of rabies vaccines in dogs.....	275
Evaluation of national surveillance for human and pet contacts with oral rabies vaccine baits.....	276
Evidence of interspecies transmission of <i>Rabies virus</i> isolated in terrestrial wild mammals from different biomas in Ceara State, Brazil	278
First laboratory-confirmed human rabies death in haiti in 15 years: a case example for the use of molecular diagnostics as a screening test.....	280
High susceptibility of livestock to endemic rabies in Pakistan.....	282
Importancia dos canídeos silvestres na epidemiologia da raiva no estado do Ceará, Nordeste, Brasil - 2003 a 2013	284
Lectin affinity chromatography for efficient <i>Rabies virus</i> glycoprotein purification.....	286
Metagenomic to access the viral diversity in free bats of Paraná, Brazil	287
Morcegos hematofagos no cerrado leste maranhense. Ausência ou presença do vírus rabico?.....	289
Perfil da ocorrência de raiva animal em diferentes espécies no estado de Mato Grosso, Brasil, de 2002 a 2011	291
Phylogeography of <i>Rabies virus</i> lineages that circulates in the <i>Desmodus rotundus</i> population in an epidemic area of the State of São Paulo, Brazil	293
Post-marketing surveillance of human rabies diploid cell vaccine (IMOVAX) in the vaccine adverse event reporting system (VAERS) in the United States, 1990-2015.....	295
Prevalência de raiva e perfil taxonômico em morcegos procedentes do estado do Pará no período de 2005-2011	297
Processo de desenvolvimento de vacina antirrábica inativada para cães e gatos utilizando meio de cultura livre de soro	299
Quirópteros não hematófagos: uma epizootia de raiva em zona urbana.....	301
Rabies in equines: could indirect rapid immunohistochemistry test contribute to the diagnosis?.....	303
Rabies Lyssavirus isolates from Brazilian different reservoirs species present distinct pattern of propagation in N2A cell	305
Raiva no município de Porto Alegre, RS, Brasil: 2012 a 2015.....	306
Raiva silvestre: raposa (canídeo) com vírus positivo no município de Limoeiro do Norte/CE	307
Recombinant <i>Rabies virus</i> glycoprotein immunization in homologous or heterologous prime-boost strategy induces neutralizing antibodies and protects mice against challenge with <i>Rabies virus</i>	309
Relato: como evitar quirópteros em estabelecimentos rurais, usando tela mosquiteira no beiral	311

Replacement method for the production of inputs used in the direct immunofluorescence technique: <i>in vivo</i> for <i>in vitro</i>	312
Reservatórios silvestres para o vírus da raiva, em municípios do Ceará nos anos 2013 a 2015: dados oriundos de vigilância passiva.....	314
Safety evaluation in cats and dogs of inactivated veterinary rabies vaccine produced using cell culture in perfusion system	316
Série histórica dos casos de raiva animal no estado do Rio de Janeiro	318
The epidemiological importance of bats in the transmission of rabies to dogs and cats in the state of São Paulo, Brazil, between 2005 and 2014.....	319
Vigilância ativa de amazonas quirópteros hematófagos após espoliação em humanos no estado do Amazonas, no período de 2002 a 2016	320
Vírus rábico em morcego frugívoro (<i>Artibeus planirostris</i>) em área urbana do município de Jaboticabal/SP	322
Vírus rábico versus morcegos de ocorrência na Amazônia Legal Maranhense	324
WEBINAR	327
PARADIGMS IN ANIMAL RABIES PREVENTION & CONTROL	329
Tribulations of the last mile	331
Demonstration of feasibility of effective canine mass vaccination programmes	332
Origami and the fine art of tracking rabies	334
Rabies and its' toolbox.....	335
Use of serology to manage animal exposures to rabies: what don't we know?	337
Just vaccinate all the dogs.... It ain't that easy.....	339
PARADIGMS IN HUMAN RABIES PREVENTION & CONTROL	341
Human rabies pre-exposure vaccination: radical rabies risk reduction for who need it most	343
Innovative antiviral strategies targeting different steps of rabv infection.....	345
Treatment of human rabies: into double digits of survivors.....	347

APRESENTAÇÃO

A Reunião Internacional de Raiva nas Américas – RITA começou há 27 anos em Atlanta, GA, EUA e é um dos mais importantes eventos de atualização científica sobre a raiva. Neste ano, o Instituto Evandro Chagas/Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde do Brasil tem a honra de coordenar a XXVII RITA. Participam conosco importantes pesquisadores dos mais diversos países e do Brasil, além de diretores de programas de raiva, funcionários da saúde pública, estudantes de pós-graduação e outros profissionais da área da saúde, agricultura, meio ambiente, universidades, com as mais variadas experiências em pesquisa, vigilância e controle da raiva.

Com o apoio da Comissão Científica Nacional, procuramos selecionar os trabalhos inscritos de maneira coerente e objetiva e distribuí-los nos diversos temas que serão abordados neste fórum.

A Comissão Organizadora, com muita dedicação e entusiasmo, além de dar todo apoio e proporcionar infraestrutura à realização do evento, procurou reservar momentos especiais de descontração e alegria para tornar os dias do evento mais agradáveis.

Agradecemos a todos que contribuíram para a realização da XXVII RITA, em especial à Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde, à Direção/IEC, à ASCOM/IEC, ao SOINF/IEC, ao NED/IEC e aos patrocinadores privados que se esmeraram em apoiar este evento.

Ao Comitê Científico Internacional, nosso agradecimento pelo importante apoio e confiança.

Esperamos que todos os participantes tenham uma feliz e proveitosa Reunião.

Elizabeth Salbé Travassos da Rosa

Coordenadora da Comissão Organizadora

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos

Presidente da Comissão Organizadora e Científica

INTRODUCTION

The International Conference on Rabies in the Americas (RITA) started 27 years ago in Atlanta, GA, USA, and is one of the most important scientific meetings on rabies worldwide. This year the Evandro Chagas Institute / Secretary of Health Surveillance / Ministry of Health of Brazil has the honor of coordinating RITA XXVII. Participants include leading researchers from different countries and Brazil, as well as graduate students, public health officials, rabies control program directors, other healthcare, agriculture and environment professionals, and academics with varied experiences in research, surveillance and control of rabies.

With the support of the National Scientific Committee we tried to select the abstracts in a coherent and objective manner and distribute them amongst the various topics to be discussed in this forum.

With great dedication and enthusiasm, the Organizing Committee, in addition to providing full support to and infrastructure for the event, sought to develop a social program of relaxation and fun to enhance the experience of participants.

Thank you to everyone who contributed to the realization of XXVII RITA, in particular the Secretary of Health Surveillance / Ministry of Health; the Evandro Chagas Institute Direction, the ASCOM / IEC, the SOINF / IEC, the CEDIM / IEC; and the private sponsors who made efforts to support this event.

To the International Scientific Committee, we express our gratitude for the strong support and confidence.

We wish all participants a happy and fruitful meeting.

Elizabeth Salbé Travassos da Rosa

Coordinator of the Organizing Committee

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos

President of the Organizing Committee and Scientific

PRESENTACIÓN

La Conferencia Internacional de Rabia en las Américas - RITA comenzó hace 27 años en Atlanta, GA, EEUU, y es uno de los más importantes eventos científicos de actualización sobre la rabia. Este año, el Instituto Evandro Chagas (IEC) / Secretaría de Vigilancia de la Salud / Ministerio de Salud de Brasil tiene el honor de coordinar la XXVII RITA. Participan con nosotros los principales investigadores de diferentes países y Brasil, así como Estudiantes graduados, funcionarios de salud pública, directores de programas de control de la rabia y otros profesionales de la salud, de agricultura, del medio ambiente, de universidades, con variadas experiencias en la investigación, vigilancia y control de la rabia.

Con el apoyo del Comité Científico Nacional tenemos intentado seleccionar los trabajos científicos de una manera coherente y objetiva y distribuirlos en los distintos temas que se tratarán en este foro.

El Comité Organizador, con gran dedicación y entusiasmo, además de proporcionar el apoyo total y la infraestructura para el evento trató de reservar momentos especiales de relajación y alegría para hacer cada día del evento más agradable.

Gracias a todos los que contribuyeron a la realización de la XXVII RITA, en particular la Secretaría de Vigilancia de la Salud / Ministerio de Salud, la Dirección del Instituto Evandro Chagas, al ASCOM / CEI, al SOINF / IEC, CEDIM / IEC y patrocinadores privados que esmeraron en apoyar este evento.

Al Comité Científico Internacional, nuestro agradecimiento por el firme apoyo y por la confianza.

Deseamos todos los participantes una reunión feliz y fructífera.

Elizabeth Salbé Travassos da Rosa

Coordinador del Comité Organizador

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos

Presidente del Comité Organizador y Científico

SPATIAL EXPANSIONS AND TRAVELLING WAVES OF RABIES IN VAMPIRE BATS IN PERU

Benavides JA^a; Valderrama W^b; Streicker DG^{a,c};

^a Institute of Biodiversity, Animal Health and Comparative Medicine, University of Glasgow, Glasgow, G12 8QQ, United Kingdom;

^b Office of Animal Health, National Service of Agricultural Health, Ministry of Agriculture-Peru, Lima, Peru;

^c Medical Research Council-University of Glasgow Centre for Virus Research, Glasgow G61 1QH, United Kingdom

Correspondence: Julio A Benavides

E-mail: julio.benavides@glasgow.ac.uk

A major obstacle to anticipating the cross-species transmission of zoonotic diseases and developing novel strategies for their control is the scarcity of data informing how these pathogens circulate within natural reservoir populations. Vampire bats are the primary reservoir of rabies in Latin America, where the disease remains among the most important viral zoonoses affecting humans and livestock. Unpredictable spatiotemporal dynamics of rabies within bat populations have precluded anticipation of outbreaks and undermined widespread bat culling programs. By analyzing 1146 vampire bat-transmitted rabies (VBR) outbreaks in livestock across 12 years in Peru, we demonstrate that viral expansions into historically uninfected zones have doubled the recent burden of VBR. Viral expansions are geographically widespread, but severely constrained by high elevation peaks in the Andes mountains. Within Andean valleys, invasions form wavefronts that are advancing towards large, unvaccinated livestock populations that are heavily bitten by bats, which together will fuel high transmission and mortality. Using spatial models, we forecast the pathways of ongoing VBR epizootics across heterogeneous landscapes. These results directly inform vaccination strategies to mitigate impending viral emergence, reveal VBR as an emerging rather than an enzootic disease, and create opportunities to test novel interventions to manage viruses in bat reservoirs.



.....
SESSÃO 1 - RAIVA HUMANA, PROFILAXIA E TRATAMENTO

SESSION 1 - HUMAN RABIES, PROPHYLAXIS AND TREATMENT

SESIÓN 1 - RABIA HUMANA, PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

.....
Moderadores/Moderators: Rosely Oliveira e Noel Tordo

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Noel Tordo



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

BARRIERS TO INNOVATION IN HUMAN RABIES PROPHYLAXIS AND TREATMENT: A CAUSAL ANALYSIS OF INSIGHTS FROM KEY OPINION LEADERS AND LITERATURE

Van de Burgwal LHM, Neevel AMG, Pittens CACM, Osterhaus ADME, Rupprecht CE, Claassen E

Correspondence: Anne M G Neevel

E-mail: anneneevel@gmail.com

Rabies is an essentially 100% fatal, neglected tropical disease (NTD), caused by Lyssaviruses. Currently the disease is vaccine-preventable with pre- and post-exposure prophylaxis (PrEP and PEP). Still rabies virus is estimated to cause up to 60,000 human deaths annually, of which the vast majority occurs in rural Asia and Africa, due to the inaccessibility of prophylaxis and non-existence of treatment. Despite these unmet clinical needs, rabies control mainly focusses on the sylvatic reservoir and drug innovation receives relatively little attention compared to other neglected tropical diseases (NTDs). As such, the lag of innovation in human rabies prophylaxis and treatment cannot be explained simply by limited return on investment alone. Strategies countering the rabies-specific innovation barriers are important for the acceleration of innovation in human rabies prophylaxis and treatment. Innovation barriers for human rabies prophylaxis and treatment. Barriers throughout society, science, business development and market domains were identified through literature review and 23 semi-structured interviews with key opinion leaders world-wide. A subsequent root cause analysis revealed causal relations between innovation barriers and a limited set of root causes. Root causes, which are most important to tackle, were aggregated into four types: market and commercial, stakeholder collaboration, public health and awareness and disease trajectory. These were found in all domains of the innovation process and thus are relevant for all stakeholders. The current study identifies barriers that were not previously described in this specific context, e.g. the competition for funding of medical

and veterinary approaches. The results stress the existence of barriers beyond the limited return on investment and thereby explain why innovation in human rabies medication is lagging behind NTDs with a lower burden of disease. A re-orientation on the full spectrum of barriers that hinder innovation in rabies prophylaxis and treatment is necessary to meet unmet societal and medical needs.



ESTUDO DE CASOS DE RAIVA HUMANA OCORRIDOS NO BRASIL E PAÍSES DA AMÉRICA DO SUL, COM ENFOQUE PARA AS ÁREAS DE FRONTEIRAS, PERÍODO 2010 A 2015

Lúcia Regina Montebello Pereira Dourado¹, Caldas EP¹, Castro APB¹, Rocha SM¹, Vargas A¹.

¹ Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde do Brasil (MS)

Correspondence: Lucia Regina Montebello Pereira Dourado

E-mail: montebello@gmail.com / lucia.montebello@saude.gov.br

Para Organização Mundial da Saúde (OMS), raiva humana transmitida pela espécie canina é uma zoonose de grande relevância para a saúde pública, está incluída no contexto e nos objetivos globais da eliminação das doenças negligenciadas relacionadas com a pobreza. Doença de notificação obrigatória para sistema nacional de vigilância em saúde no Brasil. Destaca-se pela magnitude e transcendência que representa alta taxa letalidade e vulnerabilidade que podem ser medida pela disponibilidade concreta de instrumentos de prevenção, tanto em relação ao homem, quanto, ao animal. Objetivo: conhecer, fortalecer e intensificar prevenção, vigilância e controle da raiva visando à integração das ações de saúde na fronteira do Brasil. Este estudo apresenta-se na forma de análise documental descritiva retrospectiva, dados secundários do banco de dados sistema de informação da Secretária de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (MS/SVS) Sinan (sistema nacional de agravos de notificação) e sistema de informação Organização Pan-americana da Saúde (OPS/OMS) - Sirvera (sistema de informação regional para vigilância epidemiológica da raiva). Foi selecionado o indicador caso de raiva humana ocorrida no Brasil, 2010 a 2015. Foram levantados casos humanos notificados, transmissão ciclo urbano e silvestre, ênfase para casos ocorridos nos países que fazem fronteira com o Brasil. O universo do estudo compreende as informações que estão apresentadas em números absolutos e percentuais. Para consolidação dos dados foi utilizada Tabela Windows (Tabwin) e planilhas Excel. Dos países da América do Sul, aqueles que fazem fronteira com o Brasil, foram registrados 86 casos de raiva humana sendo, transmissão ciclo

silvestre 69% (59/86), ciclo urbano 30% (26/86) e 1% (01/86) desconhecido, 2010 a 2015. O Brasil representou 20% das notificações (17/86) neste período. Dos casos ocorridos no Brasil, 53% (09/17) foi pela transmissão do ciclo urbano e 47% (08/17) ciclo silvestre. Destaca em 2015, município de Corumbá, Mato Grosso do Sul, fronteira Brasil/Bolívia, ocorreu 01 caso de raiva humana transmitida pela espécie canina, identificada variante 01. No mesmo ano, ocorreu grave epizootia de raiva canina, 57 casos diagnosticados por laboratório, na mesma localidade e ano. Estas áreas podem ser classificadas como susceptíveis, maior risco de exposição e adoecimento. Representam fragilidades e vulnerabilidades de ambos os lados dos territórios, estes aspectos corroboram para sustentabilidade da circulação viral. Existe inconsistência de informações que impedem uma análise mais detalhada da situação, portanto, silêncio epidemiológico. Os países envolvidos podem intensificar esforços para a busca e melhoria das informações e compartilhá-las, para a afirmação ou contestação deste estudo. Importante é à integração internacional, cooperação técnica e harmonização das ações prevenção e vigilância da raiva nas fronteiras entre os países.



HEALTH CARE SEEKING BEHAVIORS OF PERSONS POTENTIALLY EXPOSED TO RABIES VIRUS AFTER INTERVENTION

Etheart MD¹, Kligerman M², Augustin PD³, Monroe B⁴, Millien M³, Crowdis K⁵, Wallace RM⁴

¹ United States Centers for Disease Control and Prevention, Port-au-Prince, Haiti

² Stanford University - School of Medicine, Palo Alto, California, USA

³ Ministry of Agriculture, Natural Resources and Rural Development, Haiti

⁴ United States Centers for Disease Control and Prevention, Poxvirus and Rabies Branch, Atlanta, Georgia

⁵ Christian Veterinary Mission, Port-au-Prince, Haiti

Correspondence: Melissa D. Etheart

E-mail: vuo5@cdc.gov

Background: In 2013, Haiti established an Integrated Bite Case Management (IBCM) program in which animals involved in bite events were assessed and either euthanized and tested or placed in observation. Results were reported to the bite victims and medical departments to aid in tailored vaccination decisions. Methods: One hundred fifteen bite victims assessed by the IBCM program between May 15, 2014 and September 15, 2015 were included in this study. Semi-structured interviews were conducted to determine the program's impact on healthcare seeking behaviors of persons with confirmed exposures, probable exposures, suspected exposures, non-rabies exposures. Findings: Rates of receiving medical care and initiating vaccination increased 1.3 and 2.1-fold, respectively, after the IBCM intervention ($p = 0.04$). Among persons who were notified that they had a confirmed rabies exposure, these rates increased 2.1 and 4.3-fold, respectively ($p < 0.01$). Seven (33.3%) persons with probable rabies exposures did not initiate vaccination; one of these persons died from an illness consistent with rabies. IBCM reduced the risk of dying from rabies 67.5%. Discontinuation of vaccine after notification that the animal did not have rabies resulted in a 51.1% reduction in vaccine utilization. Interpretation: The IBCM program in Haiti dramatically improved the rate in which bite victims sought vaccination. Vaccine completion rates

among persons with likely rabies exposures were among the highest ever reported among canine-rabies endemic countries and the program could potentially reduce human rabies deaths by 67%. Financial support: No funding was obtained to complete this program evaluation.

Acknowledgements: Terquana Sanders, Haitian Ministry of Agriculture of Haiti, Haitian Ministry of Health - Department of Epidemiology, Laboratories, and Research



EFFICACY OF HUMAN MONOCLONAL ANTIBODIES (CL 184) AGAINST DIVERSE BAT RABIES VIRUS VARIANTS IN A HAMSTER MODE

Franka R¹, Carson WC¹, Ellison JA¹, Taylor TS², Smith TG¹, Kuzmina NA³, Kuzmin IV³, Marissen WE⁴, Rupprecht CE⁵

Correspondence: Richard Franka

E-mail: rpf5@cdc.gov

Following rabies virus (RABV) exposure, a combination of thorough wound washing, multiple-dose vaccine administration and the local infiltration of rabies immune globulin (RIG) are essential components of modern postexposure prophylaxis (PEP) for the prevention of human rabies. However, the unavailability of affordable rabies biologics in endemic countries, together with the absence of effective canine vaccination and population management programs, are major challenges to the developing world. These systemic deficiencies result in an excessive and concerning human rabies burden, especially among children. Although cell-culture-based rabies vaccines are increasing in use in many countries, RIG is essentially absent. The prohibitive cost of development for current polyclonal RIG products prompted the development of anti-RABV monoclonal antibodies (MAbs) that can be produced on a large scale with a consistent potency and lower production costs. A robust *in vitro* neutralization activity has been demonstrated for CL184, a 1:1 protein mixture ratio of two human anti-RABV MAbs (CR57/CR4098) produced on a PER.C6[®] human cell line, against a specific panel of more than 40 different RABV isolates. This study evaluated the efficacy of experimental PEP using different doses of CL184 and commercial vaccine in a hamster model against a lethal challenge with four different bat RABV lineages: Silver-haired Bat (Ln RABV); Canyon bat (Ph RABV); Big Brown Bat (Ef-w1 RABV); and Mexican Free-tailed Bat RABV (Tb RABV). Animals were observed for at least 45 days post-infection, euthanized at the first signs of disease and brains examined for rabies virus antigens. Representative high mortality (81-100%) was observed in both control

(placebo) and vaccine only groups. In contrast, 42% - 100% of experimental animals survived following bat RABV infection and PEP with CL184 administered in combination with vaccine. Clear dose-response relationship was observed with decreasing dose of CL184 associated with higher mortality. Importantly, CL184 was effective in neutralizing and clearing Ph RABV, even though MAb CR4098 (one component of CL184) does not neutralize this virus in vitro. By comparison, 19% - 95% survivorship was observed if human RIG (20IU/kg) and vaccine were used following challenge with different viruses. Our study has shown that the efficacy of CL184 in this animal model is non-inferior to PEP consisting of commercial HRIG and rabies vaccine. Based upon these results, CL184 presents a promising, non-inferior alternative for RIG. Both large scale and lower cost production could ensure better availability and affordability of this critical life-saving biologic in rabies endemic countries and significantly contribute to the reduction of human rabies deaths globally.



IMPLEMENTACIÓN DE PROFILAXIS POST-EXPOSICIÓN ANTIRRÁBICA HUMANA EN HAITÍ

Sergio E. Recuenco¹ Natael Fenelon^{1,2} Julio C. Pompei¹ Marco Vigilato¹

¹ PANAFTOSA-Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud

² Ministerio de Salud Pública de Haití

Correspondence: Sergio E. Recuenco Cabrera

E-mail: sergio.recuenco@gmail.com

Haití tiene la más alta endemicidad de rabia canina en las Américas. Posterior al terremoto del 2010, organismos internacionales en apoyo a la reconstrucción intervinieron para el mejoramiento de los sistemas de salud y se incorporaron actividades para el control de la rabia bajo la coordinación de PANAFTOSA-OPS/OMS. La OPS ha brindado la asistencia necesaria de acuerdo a un plan de respuesta en coordinación con el Ministerio de Salud, el Ministerio de Agricultura y el CDC-Atlanta, teniendo como uno de los objetivos más importantes lograr el uso de vacuna antirrábica humana de cultivo celular en Haití, lo que significó implementar cambios en los esquemas de profilaxis antirrábica humana previamente utilizados que tenían como base el uso de vacuna cultivada en cerebro de ratón lactante. Para implementar los esquemas de vacunación apropiados y la inclusión del uso de inmunoglobulina antirrábica se desarrollaron series de talleres dirigidas a profesionales de la salud en Port-Au-Prince, Gonaïves, y El Hinche para entrenamiento y discusión del manejo de la profilaxis post-exposición antirrábica humana de acuerdo a las recomendaciones actuales de OPS/OMS, utilizando vacunas de cultivo celular. Se presenta los contenidos y resultados del entrenamiento, con perspectivas de replicación por oficiales locales para lograr una implementación efectiva de la profilaxis post-exposición antirrábica humana en Haití.



CHARACTERIZATION AND PROPHYLAXIS AFTER EXPOSURE TO HUMAN RABIES IN EASTERN AMAZON, STATE OF PARÁ, BRAZIL BETWEEN 2000 AND 2014

Silva NP^{1,2*}, Saraiva EA¹, Santos KS³, Araújo IM¹, Silva MB¹, Nascimento KKG¹, Guimarães RJPS³, Abel I¹.

¹ Laboratório de Epidemiologia e Geoprocessamento (EpiGeo), Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará (UFPA), BR-316 Km 61, 68746-360, Castanhal, Pará, Brasil. Fone: (091) 3311-4720.

² Coordenação de Vigilância em Saúde de São João da Ponta, PA. Rua 27 de Dezembro, Centro, s/nº, 68744-000, São João da Ponta, Pará, Brasil.

³ Laboratório de Geoprocessamento do Instituto Evandro Chagas (IEC). BR 316, Km 07, Levilândia, s/nº, 68030-000, Ananindeua, PA, Brasil. Fone: (091) 3214-2169.

*Autor para correspondência: naildevet@hotmail.com. Fone: +55 (91) 98859-4001, (091) 3311-4720.

Correspondence: Nailde de Paula Silva

E-mail: naildevet@hotmail.com

Animal bites are a serious public health issue, and prevention strategies have been consistently documented. This study characterizes the anti-rabies service to human patients in 11 municipalities of microregion Salgado Paraense, state of Pará, Brazil, which borders microregion Bragantina, where human rabies cases were reported in 2004 and 2005. A descriptive retrospective search was carried out using the records of anti-rabies treatment stored in the database managed by the Pará state health authorities, Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). The cases included were reported from January 2000 to December 2014. In total, 13,403 cases were notified, with an annual growing trend ($Y = 68.571 + 344.96$). The years 2012 and 2013 presented the highest percent number of cases. Salinópolis was the municipality with the highest number of cases (27.0%), followed by Vigia (16.1%) and Curuçá (13.5%). Most patients were males (59.6%) and were 1-19 years old (48.7%). The main species involved in attacks were dogs (74.1%), followed by bats (12.1%) and cats (7.4%). Biting was the most common form of attack, mostly in lower limbs (39.9%). This study shows that the profile of cases in

the region in the past 14 years follow the cases in Brazil, with the aggravation of attacks by bats, which are gaining prominence throughout the country.

Acknowledgments: State Department of Public Health of Pará (SESPA), for the given data.





.....
SESSÃO 2 – PATOGENIA E IMUNOLOGIA

SESSION 2 – PATHOGENESIS AND IMMUNOLOGY

SESIÓN 2 – PATOGÉNESIS E INMUNOLOGÍA

.....
Moderadores/Moderators: Alan Jackson e Jane Megid

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Alan Jackson



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

SUBSTITUTION OF GENES FROM A STREET RABIES VIRUS CHANGES THE PATHOGENICITY AND PROLIFERATION CAPACITY OF HEP-FLURY-BASED CHIMERIC VIRUSES

Yifei Wang, Qin Tian, Jun Luo, Mingzhu Mei, Jiaojiao Peng, Qiong Zhang, Yongwen Luo, Xiaofeng Guo

Corresponding: Xiaofeng Guo

E-mail: xfguo@scau.edu.cn

Compared to laboratory fixed rabies strains, the pathogenic mechanism of street rabies viruses remains largely unknown. In the present research, a reconstructed virulent rabies virus rGDSH carrying all five viral genes of swine-origin street strain GD-SH-01 and five single-gene substituted chimeric rabies viruses (rHEP-shN, rHEP-shP, rHEP-shM, rHEP-shG, and rHEP-shL) were rescued from cDNA. Via using this series of chimeric rabies viruses, the contribution of each viral gene of street isolate GD-SH-01 to viral replication and pathogenicity was clarified. According to our study, replacement of HEP-Flury N or L gene with GD-SH-01 N or L gene enhanced viral genome replication and spread capacity in vitro, while replacement with GD-SH-01 P gene resulted in reduction of viral RNA synthesis and virus titer. Along with the stronger ability to induce cell apoptosis and inhibit cell proliferation, M-substituted virus rHEP-shM showed higher titers than HEP-Flury at early stage of culture in vitro. In matters of virulence, as with GD-SH-01, the rGDSH was lethal to adult mice. Though non-lethal to adult mice, rHEP-shM led to significantly stronger virulence than parental virus HEP-Flury ($P=0.0077$) in suckling mice, while substitution with G gene of GD-SH-01 was lethal to both suckling mice and adult mice. And GD-SH-01 G gene was proved to be the key factor in viral pathogenicity and immune evasion. Moreover, it's notably that substitution of GD-SH-01 P gene resulted in attenuation and enhanced immunogenicity of chimeric virus rHEP-shP. In sum, our study established a reverse genetic system

of virulent street rabies virus, which will play a vital role in investigating the pathological mechanisms of field rabies viruses. And data presented in this research offered many fresh perspectives on how each viral gene of virulent street rabies virus affects viral multiplication and pathogenicity.



AMBIGUOUS ROLE OF IL-23 IN INFECTION BY RABIES VIRUS: MAINTENANCE OF THE TH17 PROFILE OR INTERFERENCE IN THE ESTABLISHMENT OF THE TH1 PROFILE

Santos LB¹. Guedes F¹. Achkar SM¹. Duarte MIS². Fernandes ER¹.

¹ Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil;

² Laboratório de Patologia de Moléstias Transmissíveis da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Departamento de Patologia, São Paulo, Brasil.

Corresponding: Elaine Raniero Rodrigues

E-mail: elaineraniero@usp.br

IL-23 is a cytokine produced by cells of the immune system, such as NK cells, dendritic cells, macrophages, B lymphocytes, in addition to endothelial cells and resident cells of the CNS, as microglial cells and astrocytes. This cytokine is involved in promoting and proliferation of the Th17 cells and also in differentiation and induction of pro-inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6 and TNF by macrophages and dendritic cells. The objective of the present study was to evaluate and quantify in situ cells expressing IL-23, IL-17 and IFN-gamma by immunohistochemical reaction in specimens of central nervous system (cortex, hippocampus, basal ganglia, cerebellum and brainstem) from ten human rabies cases transmitted by dogs and to compare with eight normal control cases, without infection. All immunostained cells were quantified using a grid-scale in an area of 0.0625 mm² considering 40 fields in each fragment of the CNS (10 fields in meninges and 30 fields in parenchyma). Statistical analysis was performed using Mann-Whitney non-parametric test, with significance level of the 95% ($p < 0.05$). Results were expressed in number of cells per mm². We observed high expression of IL-23 in cases of rabies in relation to the control group, with statistically significant differences ($p < 0.0001$). Cells expressing IL17 were in larger number in cases of rabies in comparison to the control group ($p = 0.0261$). Interestingly, it was observed a larger number of cells expressing IL-23 compared with IL-17

in the rabies group ($p= 0.0203$). There was low expression of IFN-gamma in rabies cases, but still, with statistically significant difference compared to the control group ($p = 0.0030$). IL-23 produced mainly by microglia and astrocytes appears to have an important role in the pathogenesis of rabies more than still perform the maintenance and promotion of the Th17 profile, we could suggest the role of this cytokine in the inhibition of IFN by of the interference in STAT signaling pathway, impairing the production of IFN and suppressing Th1 immune response, presumably as a direct action of the virus on the host immune response and consequently causing damage in the viral clearance.

Financial support: FAPESP Process nº 2014/10186-7



EFFECTS OF BUFOTENINE ON MICE INFECTED WITH RABIES VIRUS: AN IN VIVO STUDY

Vigerelli H^{1,2}, Sciani JM¹, Lavezo AA³, Silva ACR², Gomes CP², Pimenta DC¹

¹ Laboratory of Biochemistry and Biophysics, Butantan Institute, São Paulo, Brazil,

² Laboratory of Serology, Pasteur Institute, São Paulo, Brazil,

³ Laboratory of Biological Quality Control – in vivo, Butantan Institute, São Paulo, Brazil

Corresponding: Hugo Vigerelli de Barros

E-mail: hugovigerelli@gmail.com

The majority of human rabies fatalities can be associated to socioeconomic factors such as ineffective post exposure prophylaxis regimens, the lack of existing rabies biologics and inadequate canine vaccination. After entry into primary motor neurons, retrograde axonal transport, replication and assembly in the neuronal cell body, RABV starts a new round of infection, resulting a neuron-to-neuron spread and transsynaptic spread until is widely distributed in the CNS, successfully evading immune system detection. The retrograde axonal transport along axons, the primary mechanism of RABV neuroinvasion, allows the virus to bypass the brain blood barrier (BBB). Recent studies conducted by our group demonstrated that bufotenine, a tryptamine alkaloid present in the skin secretion of amphibians of the genus *Rhinella* but also found in the Leguminosae family, was able inhibit the penetration of RABV (PV, CVS and street virus) in mammalian cells. Taking into account that rabies virus have strategies to bypass the BBB, and that bufotenine is able to inhibit rabies virus infection in vitro experiments and also can get to the CNS, the aim of this study was to evaluate the effects of bufotenine as a possible interfering agent in the process of infection of rabies virus in vivo, as well as trying to investigate and understand the bioactive effects of this alkaloid. Six groups were selected: Control group (subcutaneous NaCl; 250 µl/animal/day), bufotenine control group (0.63 mg in 250 µl of saline/animal/day), two rabies control groups (intracerebral inoculation route) with dilutions of CVS able to kill 90 – 100% of the animals and two treatment groups of mice inoculated with the

same two dilutions of CVS and treated with the same bufotenine dose. The animals were observed for 21 days or until the appearance of the 3rd stage of rabies disease symptoms, when the animals were euthanized (endpoints). It was possible to monitor one healthy animal up to the 13th day, while the control group had all animals presenting (at least), the 1st stage of infection from the 5th day on. The survival rate was of 85% among treated animals versus 66% of CVS control on the 5th day, 50% vs 16% on 6th day, 33% vs 0% on 7° day, and 16% vs 0% on 8° day, which lasted until the 21st and last day of the experiment. Although preliminary, these are promising results for a – so far – incurable disease. Complimentary experiments are being conducted, involving other CVS dilutions and administration routes. Meanwhile, the brains of these mice were collected and are being analyzed by immunohistochemistry to evaluate differences between the treated and control groups, among others experiments being performed in order to investigate the mechanism of action of bufotenine, such as proteomics of treated cells, bufotenine detection in brain, liver, heart, kidney and lung of the treated animals and liposomes experiments. Also, bufotenine analogues are being tested for the antiviral effect in vitro.



GENE EXPRESSION PROFILE INDUCED BY TWO DIFFERENT VARIANTS OF STREET RABIES VIRUS

Appolinario CM¹, Marchi FA², Peres MG¹, Ribeiro BLD¹, Mioni MR¹, Vicente AF¹, Fonseca CR¹, Rogatto SR², Megid, J^{1*}

¹ UNESP- Univ. Estadual Paulista- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

² NeoGene- AC Camargo Cancer Center- São Paulo, SP, Brazil

Corresponding: Camila Michele Appolinario

E-mail: camilaapp.vet@gmail.com

Rabies pathogenesis has been studied in many different aspects but a precise understanding of the mechanisms involved in this disease was not reached. Rabies virus variants present different levels of neurovirulence and thus differ in the levels of inflammation, apoptosis and neural degeneration specially when street rabies virus is compared to a fixed strain. The aim of this study is to evaluate in three different moments the gene expression profile in brains of mice infected with a variant 2 (V2) and variant 3 (V3) street rabies virus. C57/BL6 mice, SPF, female, 4-6 weeks-old, were inoculated intramuscularly (i.m) or intracerebrally (i.c) with rabies virus inoculum V2 or V3 (LD50 10-6,66); at the same time mice were inoculated i.m or i.c with saline (controls). Inoculated animals were separated in observational group, i.m inoculation group in which mice were sacrificed at 5 and 10 days post-inoculation (d.p.i.), and i.c inoculation group in which samples were collected in agonic phase; samples submitted to microarray (GeneChip® Mouse Gene 2.0 ST Array; Affymetrix®) were composed by whole brain. Canonical pathways, networks and gene functions were evaluated using Ingenuity Pathways Analysis (IPA). In a global analyse, by im route, V2 induced a more consistent and precocious activation of canonical pathways related to innate and/or adaptative immune response (B cell development; JAK2 in hormone-like cytokine signaling; Primary immunodeficiency signaling; Nur77 signaling in T lymphocytes; Recognition of bacteria and viruses; Antigen presentation pathway; Interferon signaling; Dendritic cell maturation; Communication between innate and adaptive immune

cells) compared to V3 in which canonical pathways associated with endocrine and metabolic disorders were mainly enrolled (Bupropion degradation; Acetone degradation; Complement system; Estrogen biosynthesis; Netrin signaling; LPS/IL-1 Mediated inhibition of RXR function; alfa tocopherol degradation). In animals V2 inoculated by i.c route, canonical pathways associated to immune response and cell apoptosis were present (Acute phase response signaling; Granulocyte adhesion and diapedesis; IL-10 signaling, Death receptor signaling) and in animals inoculated with V3 by the same route pathways associated with immune response and cell death had their expression changed (Recognition of bacteria and viruses; Acute phase response signaling; Death receptor signaling; Dendritic cell maturation; Granulocyte adhesion and diapedesis). The results in i.m groups suggests that an precocius and greater activation of immune pathways may be related to the higher lethality rate as observed in V2. Otherwise in agonic phase the number of genes and top pathways activated are alike demonstrating that pathogenesis after intense viral replication in SNC is variant independently in our study.



NEUROINVASIVIDADE, NEUROVIRULÊNCIA E NEUROPATHOGENICIDADE DO VÍRUS FIXO CVS/31 E DAS VARIANTES DE RUA DO VÍRUS DA RAIVA (RABV) EM MODELO MURINO DE NEUROINFECÇÃO

Gamon THM¹, Mesquita LP¹, Maiorka PC¹, Asano KM², Achkar SM², Scheffer KC², Fahl WO², Iamamoto K², Mori CMC¹, Mori E²

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

² Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

Correspondente: Enio Mori

E-mail: eniomori@gmail.com

Todos os mamíferos são susceptíveis ao RABV e os principais reservatórios pertencem às ordens Carnivora e Chiroptera. Distinções em relação à evolução, manifestações clínicas, lesões, distribuição e respectiva carga viral no SNC dos animais podem estar relacionadas às características de neuroinvasividade, neurovirulência e neuropatogenicidade das diferentes variantes do RABV. O objetivo deste trabalho foi comparar essas características fenotípicas do RABV em camundongos BALB/c, de três semanas de idade. Para isso, os animais foram inoculados com 10⁵ DLIC50/0,03mL pela via coxim plantar com vírus fixo CVS/31 e variantes de rua do RABV originárias de bovino (variante antigênica 3 - AgV3 compatível com os isolados em morcegos hematófagos) e de cachorro-do-mato (linhagem genética compatível com os isolados em carnívoros silvestres). Todos os camundongos inoculados apresentaram sintomas compatíveis com a forma paralítica da doença, não sendo possível observar diferenças nas manifestações, tais como: postura arqueada, pelos eriçados, prostração, ataxia, paresia e paralisia dos membros posteriores. Entretanto, detectaram-se diversidade de virulência entre essas estirpes, demonstrado pelas distinções de períodos de incubação e de evolução e taxa de letalidade. Nos animais inoculados com o CVS/31, observou-se letalidade de 100% e períodos agudos de incubação e de evolução (5 dias e 1 dia, respectivamente). Já nos inoculados com AgV3, apesar da observação do mesmo grau de letalidade, os

períodos de incubação e de evolução foram maiores (7 e 2 dias, respectivamente). Diferentemente, naqueles inoculados com linhagem de canídeo silvestre a letalidade foi baixa (50%); contudo, com períodos de incubação e evolução de 6 e 3 dias, respectivamente. Nos camundongos inoculados com CVS/31 observaram-se predomínio de manguitos perivasculares na medula espinhal, degeneração neuronal em medula e tronco encefálico e distribuição antigênica viral pela técnica de imunoistoquímica no tronco encefálico, medula, tálamo e cerebelo. Os camundongos inoculados com amostras de AgV3 apresentaram predomínio de manguitos perivasculares na medula e córtex, degeneração neuronal generalizada em todas as estruturas do SNC e distribuição antigênica no tálamo, tronco encefálico e córtex. Já nos animais inoculados com a amostra de canídeo silvestre, detectou-se predomínio de manguitos perivasculares no tronco encefálico, degeneração neuronal em medula espinhal e distribuição antigênica no córtex. Na inferência semi-quantitativa da distribuição de RNA viral analisada pelo RT-qPCR, observou-se maior carga viral no SNC de camundongos inoculados com CVS/31 e AgV3 em comparação com aqueles inoculados com a linhagem de canídeo silvestre. Ao analisar os vírus de rua, concluiu-se que a AgV3 foi mais neuropatogênica, neurovirulenta e neuroinvasiva nos camundongos em comparação com a linhagem de canídeo silvestre.

Apoio Financeiro: FAPESP 2015/17807-0 CEUA FMVZ/USP: 3100/2013



IMUNOPATOLOGIA EXPERIMENTAL DO VÍRUS DA RAIVA, COM AS VARIANTES ANTIGÊNICAS 2 E 3

Casseb LMN¹, Barbosa Coelho TFS¹, Franco ECS¹, Travassos da Rosa ES¹, Pereira AS¹, Quaresma JAS², Vasconcelos PFC^{1,2}

¹ Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, Pará, Brasil,

² Universidade Estadual do Pará

Correspondente: Livia Medeiros Neves Casseb

E-mail: liviacasseb@iec.pa.gov.br

A raiva é uma zoonose por ter como hospedeiros, reservatórios e transmissores, mamíferos silvestres ou domésticos, caracterizada por doença aguda, causada pelo vírus da raiva (RABV) que compromete o sistema nervoso central, caracterizando-se por encefalite, com prognóstico fatal em quase todos os casos, em qualquer espécie de mamíferos. O objetivo deste trabalho foi descrever achados patológicos e imunopatologia de diferentes cepas de vírus da raiva nos tecidos do sistema nervoso central (SNC) verificando a resposta imunológica celular e humoral durante infecção experimental de camundongos *Mus musculus*. Os animais foram inoculados experimentalmente com duas variantes antigênicas do RABV (VAg2 e VAg3), por diferentes vias de infecção, e um grupo controle. Os animais foram observados quanto ao desenvolvimento de sinais clínicos e sintomas, sendo coletados e eutanasiados seguindo uma cinética. Os tecidos foram fixados em formaldeído a 10%, incluídos em blocos de parafina, corados por hematoxilina-eosina para análise histopatológica, e marcados com anticorpos específicos para imunohistoquímica a fim de caracterizar e quantificar *in situ* a distribuição do antígeno e a resposta inflamatória. Antígenos do RABV foram encontrados no SNC de maneira difusa, mas principalmente nos neurônios. Foi observada supressão dos linfócitos TCD4+, com aumento dos linfócitos TCD8+. Observou-se apoptose importante, com morte de células da glia. Houve aumento de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-1 β e IL-8), anti-inflamatórias (TGF- β e IL-4) e iNOS em ambas as variantes antigênicas do RABV, mas sem observação

de um perfil TH17. Esta análise possibilitou caracterizar a raiva como uma meningoencefalite, por acometer os microambientes meningeal, perivascular e intraparenquimatosa. E o processo inflamatório foi verificado mesmo quando na presença de corpúsculos de Negri, porém com menor intensidade.





SESSÃO 3 - EPIDEMIOLOGIA E VIGILÂNCIA

SESSION 3 - EPIDEMIOLOGY AND SURVEILLANCE

SESIÓN 3 - EPIDEMIOLOGÍA Y VIGILANCIA



Moderadores/Moderators: Pedro Vasconcelos e Charles Rupprecht

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Charles Rupprecht



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

GEOGRAPHIC VISUALIZATION OF RABIES SURVEILLANCE DATA IN THE UNITED STATES, 2014

Monroe BP, Birhane MG, Blanton J, Yager P, Wadhawa A, Orciari L, Wallace R

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA 30333, USA.

Corresponding: Benjamin P Monroe

E-mail: ihd2@cdc.gov

The passive rabies surveillance system in the United States is highly robust, with >100,000 samples being tested annually by over 130 trained laboratories across the country. Information on species, location, collection date, and laboratory test results are provided for the majority of records. Surveillance data are collected annually from state, local, and territorial health authorities and the United States Department of Agriculture for compilation into a national report that contains summary tables and maps for specific animals. The United States occupies a large area that contains over 3,000 county-equivalent reporting jurisdictions, many with heterogeneous population densities. These geographic factors combined with irregular annual funding to support rabies testing and the distribution of terrestrial variant regions can make interpretation of annual surveillance data cumbersome inter-annually or between regions of the country. Geovisualization of rabies data using geographic information systems (GIS) allows for improved interpretation of complex data for decision-making and risk communication. We applied a suite of geovisualization tools available in ArcGIS and Quantum GIS to the 101,708 samples tested for rabies in the United States and Puerto Rico in 2014. The resulting images and animations may provide a unique opportunity for health officials and the public to examine and respond to multidimensional rabies data.



SIRVERA: ATUALIZAÇÃO PARA MELHORIA DA QUALIDADE DE INFORMAÇÃO SOBRE RAIVA NAS AMÉRICAS

Rocha F¹, Flores BM¹, Buzanovsky LP¹, Santos AG¹, Carvalho MHF¹, Vigilato MAN¹, Vilas VJDR¹, Pompei JCA¹, Vazquez MJS¹, Cosivi O¹

¹ Centro Pan Americano de Febre Aftosa e Saúde Pública Veterinária – Organização Pan Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (PANAFTOSA – OPAS/OMS)

Correspondente: Felipe Rocha

E-mail: rochafe@paho.org

Um sistema de informação é um conjunto integrado de partes que se articulam para a finalidade de disponibilização de informações de qualidade onde e quando necessárias. Estes sistemas são compostos por vários elementos ligados à coleta, armazenamento e processamento de dados e à difusão de informações que se articulam com o objetivo de transformar dados em informação I. O Sistema de Informação Regional para a Vigilância Epidemiológica da Raiva (SIRVERA) é uma base de dados fundamental para registro e captação de informação sobre a raiva (tanto animal quanto humana) nas Américas sendo criado e posto em funcionamento em 1969. Desde então os países reportam a ocorrência da raiva em seus territórios. Em 2001, passou a ser gerenciado pela Área de Zoonoses do Centro Pan Americano de Febre Aftosa e Saúde Pública Veterinária da Organização Pan Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (PANAFTOSA – OPAS/OMS). Em julho de 2016 foi relançado com uma nova interface e novas ferramentas de registro e captação de informação (SIRVERA 2.0) II. Ao longo desses 40 anos de existência, o sistema disponibiliza informações sobre a raiva nas Américas e possui um banco de dados com mais de 25.000 registros da vigilância e ocorrência de raiva em animais domésticos e silvestres, que correspondem a casos em mais de 200.000 animais. Sobre os casos de raiva em humanos, são mais de 1.400 casos registrados. Este banco disponibiliza informações sobre a região, países e demais níveis administrativo, metodologia diagnóstica empregada, espécie

agressora e etc.. Atualizado para a versão 2.0, o sistema agora poderá receber o registro das coordenadas do local da ocorrência, informações referentes às medidas de controle dos possíveis focos e informações sobre tratamento para casos humanos. Os países são responsáveis pela informação inserida no sistema assim como sua qualidade. Nenhum sistema de informação pode fornecer informações de melhor qualidade que os dados que o alimentam e, portanto, a colaboração e interesse dos países neste sistema são o que o manteve por tantos anos. A raiva é uma enfermidade presente nas Américas e os esforços para controlá-la e/ou eliminá-la, poderão ser apoiados pelo entendimento sobre o comportamento ao longo dos anos. Acredita-se que a atualização do sistema SIRVERA, a inserção de novas ferramentas de busca e a possibilidade de inserção de dados georreferenciados possibilitará uma melhor qualidade nas informações e conhecimento aos países, à comunidade científica e ao público em geral.



DYNAMICS OF RABIES IN THE CARIBBEAN

Seetahal JFR ⁽¹⁾, Vokaty A ⁽²⁾, Pradel J ⁽³⁾, Louison B ⁽⁴⁾, Van Sauers A ⁽⁵⁾, James C ⁽⁶⁾, Millien MF ⁽⁷⁾, Portch R ⁽⁸⁾, Carrington CVF⁽¹⁾, Rupprecht CE ⁽⁹⁾

⁽¹⁾ Faculty of Medical Sciences, The University of the West Indies, St. Augustine, Trinidad and Tobago;

⁽²⁾ Pan American Health Organization (PAHO), Port of Spain, Trinidad and Tobago ;

⁽³⁾ CIRAD, UMR CMAEE, CaribVET Coordination Unit, Petit-Bourg, Guadeloupe;

⁽⁴⁾ Ministry of Agriculture, St. George's, Grenada;

⁽⁵⁾ Ministry of Agriculture, Paramaribo, Suriname;

⁽⁶⁾ Veterinary Public Health Unit, Ministry of Public Health, Georgetown, Guyana;

⁽⁷⁾ Ministry of Agriculture, Natural Resources and Rural Development, Port-au-Prince, Haiti;

⁽⁸⁾ Oniris University of Veterinary Medicine, Food Science and Engineering, Nates, France;

⁽⁹⁾ The Wistar Institute, Philadelphia, USA

Corresponding: Janine Seetahal

E-mail: jseetahal@gmail.com

The 1983 PAHO regional program to eliminate canine-transmitted rabies in the Americas significantly decreased dog rabies but did not affect wildlife transmission. Rabies virus (RABV) epidemiology varies across the region, particularly between mainland countries and Caribbean islands, where differences in reservoir species occur, as well as surveillance and control programs employed. Such diversity is underappreciated, as the Caribbean is usually grouped with Latin America when analysing data throughout the Hemisphere. Hence, island-specific risks and control measures are not addressed adequately. To address these concerns, a regional rabies working group was established under the Caribbean Animal Health Network (CaribVET) to improve rabies prevention and control strategies in the region. The group pools regional and international expertise, coordinates utilization of limited resources and facilitates regional communication. Recent achievements include a rabies diagnostics training workshop, development of educational materials and a survey administered to relevant health authorities in CaribVET member countries. To summarize local epidemiological conditions, canine rabies still occurs on the islands of Cuba and Hispaniola (Dominican Republic and Haiti). However, in most other countries the disease is enzootic in wildlife, maintained primarily by the vampire

bat (*Desmodus rotundus*) in Trinidad and Tobago, Guyana, Suriname, Belize and French Guiana or the small Indian mongoose (*Herpestes auro-punctatus*) in Cuba, Dominican Republic, Grenada and Puerto Rico. During the last decade, human cases were reported in Cuba, French Guiana and Hispaniola, whereas animal cases (mainly livestock) were reported in all enzootic countries, except Suriname. Surveillance is largely passive but there is also enhanced surveillance in feral carnivore and wildlife populations in several countries. Human bite exposures are reportable in most affected countries, although post-exposure prophylaxis (vaccine and immune globulin) is only available in 50% of countries. Laboratory diagnostics for animal rabies is conducted in 70% of enzootic countries, but only 30% have the capacity for human testing. Prevention and control strategies include vector control, animal vaccination (livestock and domestic carnivores) and import health restrictions (domestic carnivores). For the latter, while vaccination is a consistent pre-requisite for entry, RABV antibody testing is not required by some countries. The sea borders of these islands may minimize their risk of RABV introduction without human assistance, except in Trinidad, where there is evidence suggesting introduction via wildlife migration from the nearby mainland. Although bat-transmitted rabies in the Caribbean appears predominately associated with vampire bats, reports of other species implicated in viral transmission may warrant their inclusion in surveillance activities, particularly in reportedly 'rabies-free' areas.



VIGILÂNCIA DA RAIVA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CEARÁ - DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Francisco Atualpa Soares Júnior, Benedito Neilson Rolim, Nélio Batista Moraes, Maria do Rosário Ramalho Garcia

Correspondente: Francisco Atualpa Soares Júnior

E-mail: atualpa@bol.com.br

O perfil epidemiológico da raiva tem mudado bastante no Estado do Ceará nos últimos anos. Com relação a sua capital, a cidade de Fortaleza, não há registro de casos de raiva humana ou animal a mais de 10 anos, o que denota o sucesso das ações de controle da doença. De forma mais precisa, a massificação das campanhas de vacinação anti rábica de cães e gatos, bem como os trabalhos de educação em saúde da população, fizeram com que a raiva urbana fosse extinta da capital do Estado de forma concreta, após um trabalho incessante por parte das autoridades de Saúde. Avaliando-se os últimos 3 anos, vimos que a cidade de Fortaleza avaliou ao longo desse período o seguinte quantitativo: 2013: 99 amostras de cães e gatos e 1 de sagui; 2014: 222 amostras de cães e gatos, 5 morcegos e sagui; 2015: 162 amostras de cães e gatos, 6 morcegos, 4 saguis e 1 raposa; 2016 até julho: 78 amostras de cães e gatos e 4 de morcegos; Todas as amostras, ao longo desses 3 anos, foram negativas para raiva. Percebe-se que a importância dos animais domésticos à circulação da raiva em ambientes urbanos vem diminuindo consideravelmente, sobretudo pela eficácia das campanhas de vacinação do Município de Fortaleza, bem como, do trabalho educacional com a população, o que orienta a mesma sobre o ciclo da raiva urbana e da importância do monitoramento de animais silvestres. A cessão de casos de raiva urbano, conseqüentemente, não significam o fim da raiva no Município de Fortaleza, mas sim, o fim da circulação do vírus urbano da doença. O monitoramento da circulação da raiva silvestre ainda é uma incógnita, tendo em vista a carência do monitoramento mais preciso da circulação viral. Apesar do aumento da preocupação por parte da população

e autoridades, não se tem ainda uma diretriz clara de controle e trabalho para acompanhar e monitorar a doença. A circulação viral no Estado é concreta e, tendo em vista o crescimento urbano da cidade de Fortaleza, a invasão de espaços silvestres e a migração de animais de outros habitats, precisamos reforçar o acompanhamento e monitoramento da circulação viral. Falamos de 1 das 5 capitais do País, situada em um território nordestino, o que torna esse monitoramento mais difícil estrutural e financeiramente falando. A mudança do perfil da raiva no Ceará, remete a Fortaleza a preocupação, cada vez mais latente, de acompanhamento da raiva silvestre, tendo em vista a real preocupação dessa hoje no Estado, como a forma predominante e circulante.



SURVEILLANCE TO ESTABLISH ELIMINATION OF TRANSMISSION AND FREEDOM FROM DOG MEDIATED RABIES

Hampson K¹, Bucheli STM², Caldas E³, Carvalho M⁴, Cleaveland S¹, Dushoff J⁵, González Roldán JF⁶, Guitiérrez Cedillo V⁶, Haydon DT¹, Hotopp K¹, Lugelo A⁷, Lushasi K^{1,8}, Mancy R¹, Rysava K¹, Vigilato MAN⁴, Del Rio Vilas V⁴

¹ University of Glasgow, Glasgow, UK,

² Pan American Health Organization/ World Health Organization, Ciudad de Mexico, Mexico,

³ Unidade Técnica de Vigilância de Zoonoses –UVZ, Brasília, Brazil,

⁴ Pan American Health Organization, Rio de Janeiro, Brazil,

⁵ McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada,

⁶ Secretaría de Salud/CENAPRECE, Ciudad de Mexico, Mexico,

⁷ Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania,

⁸ Ifakara Health Institute, Ifakara, Tanzania

Corresponding: Katie Hampson

E-mail: Katie.Hampson@glasgow.ac.uk

Sensitive surveillance approaches that detect a sufficiently high proportion of circulating cases to enable effective decision-making are needed to guide elimination programmes. A global target for the elimination of human deaths from dog-mediated rabies has been set for 2030; a prerequisite for elimination of transmission and declaration of freedom from disease. Discussions about rabies surveillance have mostly focused on diagnostic techniques, which are extremely sensitive and specific. Yet, little is known about what proportion of animal rabies cases are detected with current field surveillance methods. We compare the sensitivity of field surveillance approaches in terms of case detection and investigate verification procedures to determine rabies elimination. We find that approaches aiming to sample a proportion of the population— either of non-suspicious healthy animals, or of sick or dead animals – are neither sensitive nor cost-effective. The low prevalence of rabies, and the short window in which disease can be detected precludes a sampling-based approach. Instead, targeted approaches of active case finding are needed during the endgame. Using contact tracing we reveal a uniquely

detailed picture of rabies circulation and explore variation in rabid dog biting behaviour and health seeking behaviour of rabies-exposed bite victims. We demonstrate that active investigation of patients attending clinics with bite-injuries is a sensitive approach to case detection with potential to increase laboratory confirmation of dog rabies cases. On the basis of these results, we suggest potential criteria for assessing progress towards rabies elimination and determining rabies freedom with a high degree of confidence. We explore the potential utility, cost-effectiveness and practicality of implementing such approaches for validating elimination of transmission as countries and regions implement control programmes. Our findings suggest that in endgame settings in Latin America, active investigation of bite patients could be a sensitive and cost-effective approach to inform control efforts and validate freedom from disease at the state level. The decision to switch from routine to enhanced surveillance depends on rabies incidence, becoming increasingly valuable at low incidence, and a potentially valuable component of responses to outbreaks in previously rabies-free settings.

Acknowledgements: This work was funded by the Wellcome trust and the Pan American Health Organization. We are grateful to government partners, particularly health and veterinary officers at district and state level who provided valuable support.





SESSÃO 4 - EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

SESSION 4 - MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

SESIÓN 4 - EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

.....
Moderadores/Moderators: Juan Montano e Daniel G Streicker

Nota chave/Keynote/Notícia Clave: Daniel G Streicker



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

HOST-PATHOGEN EVOLUTIONARY SIGNATURES REVEAL DYNAMICS AND FUTURE INVASIONS OF VAMPIRE BAT RABIES

Streicker DG ^(1,2,3), Winternitz JC ^(3,4,5), Satterfield D ⁽³⁾, Condori-Condori RE ⁽⁶⁾, Broos A ⁽²⁾, Tello C ⁽⁷⁾, Recuenco S ⁽⁸⁾, Velasco-Villa A ⁽⁶⁾, Altizer S ⁽³⁾, Valderrama, W ⁽⁷⁾

¹ Institute of Biodiversity, Animal Health and Comparative Medicine, University of Glasgow, Glasgow, G12 8QQ, Scotland, UK

² MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research, Glasgow, G61 1QH, Scotland, UK

³ Odum School of Ecology, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA

⁴ Institute of Vertebrate Biology, Czech Academy of Sciences, v.v.i., Květná 8, 603 65 Brno, Czech Republic

⁵ Department of Evolutionary Ecology, Max Planck Institute for Evolutionary Biology, 24306 Ploen, Germany

⁶ Poxvirus and Rabies Branch, Division of High Consequence Pathogen and Pathology, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA 30606, USA

⁷ Association for the Conservation and Development of Natural Resources, Lima, Peru

⁸ Instituto Nacional de Salud, Ministry of Health of Peru, Lima, Peru

Corresponding: Daniel G Streicker

E-mail: daniel.streicker@glasgow.ac.uk

Anticipating how epidemics will spread across landscapes requires understanding host dispersal events that are notoriously difficult to measure. Here, we contrast host and virus genetic signatures to resolve the spatiotemporal dynamics underlying geographic expansions of vampire bat rabies virus (VBRV) in Peru. Phylogenetic analysis revealed recent viral spread between populations that, according to extreme geographic structure in maternally-inherited host mitochondrial DNA, appeared completely isolated. In contrast, greater population connectivity in bi-parentally inherited nuclear microsatellites explained the historical limits of invasions, suggesting that dispersing male bats spread VBRV between genetically isolated female populations. Host nuclear DNA further indicated unanticipated gene flow through the Andes mountains connecting the VBRV-free Pacific coast to the VBRV-endemic Amazon rainforest. By combining Bayesian phylogeography with landscape resistance models, we projected invasion routes through northern Peru that were validated by real-

time livestock rabies mortality data. The first outbreaks of VBRV on the Pacific coast of South America could occur by June 2020, which would have serious implications for agriculture, wildlife conservation and human health. Our results show that combining host and pathogen genetic data can identify sex-biases in pathogen spatial spread, which may be a widespread but underappreciated phenomenon, and demonstrate that genetic forecasting can aid preparedness for impending viral invasions.

Financial support: Funding was provided by the National Science Foundation (Grant DEB-1020966) to DS and SA and the Pan American Health Organization to WV. DS was funded by a Sir Henry Dale Fellowship, jointly funded by the Wellcome Trust and Royal Society (Grant 102507/Z/13/Z).



CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO GENOMA COMPLETO DE CEPAS DAS VARIANTES ANTIGÊNICAS 2 E 3 DO VÍRUS DA RAIVA ISOLADAS NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Barbosa Coelho TFS¹, Travassos da Rosa ES¹, Casseb LMN¹, Pereira AS¹, Ferro MNP¹, Paiva FAS¹, Medeiros DBA¹, Vasconcelos PFC^{1,2}.

¹ Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, Pará, Brasil;

² Universidade Estadual do Pará

Correspondente: Taciana Fernandes Souza Barbosa Coelho

E-mail: tacionabarbosa@iec.pa.gov.br

A raiva é uma das zoonoses mais antigas e temidas pelo homem devido a seu desfecho fatal. O RABV pertence à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae, sendo o membro protótipo do gênero Lyssavirus. Para a caracterização molecular do genoma do RABV foram utilizadas 23 cepas virais isoladas na Amazônia brasileira, sendo 16 delas caracterizadas antigenicamente como variantes VAg3 e sete como VAg2. A identidade nucleotídica entre as amostras de VAg3 foi de 97%, enquanto que para as amostras de VAg2, a similaridade nucleotídica foi de 99%. A análise filogenética do genótipo 1 (GT1) subdividiu-se em dois clados, um relacionado aos quirópteros, contendo cepas de VAg3 da Amazônia Brasileira além de cepas de VAg4 9704ARG de *Tadarida brasiliensis*), cepas de quirópteros capturados na Paraíba (MPVI, MP19) e cepa de VAg6 (BR-BAT34) (*Lasiurus* sp.); e outro aos carnívoros com amostras de VAg2 subdivididas em duas linhagens, sendo uma relacionada a VAg2 de *Canis lupus familiaris*, nas quais encontram-se inseridas as amostras antigenicamente relacionada à VAg2 da Amazônia Brasileira (destacadas em Azul) e outra relacionada a VAg2 de *Licalopex vetulus* (raposa brasileira). A análise molecular da Nucleoproteína N (N), mostrou algumas alterações nos domínios do core C-terminal que interage com o RNA viral. Com relação à sintomatologia, não foi possível a identificação de algum sítio capaz de diferenciar as formas clínicas. Quanto a fosfoproteína (P), uma única alteração

foi observada entre variantes na posição 145, sendo reconhecida a serina na VAg2 (KSTQT). Sobre a glicoproteína G, observou-se divergência entre as variantes na posição 132, sendo observado Ácido glutâmico (Q) para VAg3 e Histidina (H) para VAg2. Na proteína de Membrana (M), especificamente na região altamente hidrofóbica nas posições 89 a 107, apenas uma diferença entre VAg2 e VAg3 deste estudo foi observada na posição V97I. Referindo-se a RNA-polimerase (L), poucas alterações sinônimas foram observadas, o que facilita um alto índice de estabilidade do gene. Na região L1 dois pontos de mutação entre VAg3 e VAg2 foram observados nas posições V1.488I e R1.497K; enquanto que na região L2 observou-se apenas um ponto de divergência entre as variantes estudadas na posição A1.892T. Possíveis marcadores biológicos para o segmento L em relação a grupo-específicos de VAg2 para VAg3 foram encontrados nos pontos: G236N, A329V, G684N, H1227Q, T1305I, S1424G, A1517V e T1565A.



COMPLETE GENOMES OF EIGHT BRAZILIAN LINEAGES OF RABIES VIRUS

Oliveira RN¹, Freire CC², Souza, SP³, Iamarino A², Zanotto P. M², Pessoa R⁴, Sanabani S. S⁴, Castilho GC¹, Batista HBCR¹, Carnieli Jr P¹, Macedo CI¹, Watanabe JT⁴, Brandão PE⁵

¹ Laboratório de biologia molecular, Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil.

² Laboratório de evolução molecular e bioinformática, Departamento de microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas-ICB-II, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

³ Venco Saúde Animal, Londrina, Brasil.

⁴ Departamento de virologia, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁵ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Corresponding: Rafael de Novaes Oliveira

E-mail: rafaeldenovaes@yahoo.com.br

O vírus da raiva (RABV) é um vírus RNA neurotrópico pertencente à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae, gênero Lyssavirus, responsável por uma encefalomielite zoonótica fatal. No Brasil, o RABV infecta diferentes reservatórios das ordens Carnivora, Chiroptera e Primata, os quais mantêm quinze ciclos de transmissão independentes caracterizados por linhagens genéticas específicas. As espécies de canídeos *Canis familiaris* e *Cerdocyon thous* são hospedeiros de duas linhagens de RABV que fazem parte do complexo de linhagens de canídeos conhecido como “cosmopolita”. O Sagui-de-tufos-brancos (*Callithrix jacchus*) e nove gêneros de morcegos são os reservatórios de treze outras linhagens envolvidas nos ciclos silvestres da raiva no Brasil. Obtenção de sequências genômicas de RABVs representativos de todo o mundo é essencial para uma compreensão das interações vírus-hospedeiro e a sua co-evolução. Visando auxiliar neste sentido, realizamos o sequenciamento de DNA a partir de reações de RT-PCR genômicas, realizadas a partir de RNA anti-genômico extraído de vinte e um isolados representativos de oito das quinze linhagens genéticas de RABV existentes no Brasil. O sequenciamento dos genomas completos foi realizado através de sequenciamento de próxima geração (NGS) na plataforma MiSeq (Illumina). As sequências foram montadas

sem o uso de genomas de referência (montagem de novo) no programa CLC Genomics Workbench 6. Os genomas cujos contigs montados foram menores que o esperado com base no tamanho do fragmento sequenciado por PCR, foram estendidos por mapeamento em relação ao genoma de referência (PV M13215.1) com 95% de similaridade sem aberturas GAP ou com o método de montagem de novo com os mesmos critérios de similaridade com o programa Geneious R6. Ao final da edição foram retiradas as regiões de anelamento dos primers utilizados na RT-PCR genômica. A organização genômica dos vinte e um isolados de RABV foi consistente com outros RABV previamente caracterizados e sequências correspondentes aos cinco mRNA e respectivas regiões intergênicas dos RABV foram obtidas variando de 11.877 a 11.882 nucleotídeos, com tamanho conservado das regiões codificantes da nucleoproteína (N), proteína de matriz (M), fosfoproteína (P), glicoproteína (G) e RNA polimerase dependente de RNA (L). A única exceção foi o isolado 1770/12, em que o códon para o último aminoácido na nucleoproteína do vírus mudou para o códon de parada TGA, fato compartilhado com outros isolados desta linhagem. A análise filogenética das sequências revelou agrupamentos específicos associados a determinados hospedeiros, provavelmente devido à adaptação destas linhagens de RABV em cada reservatório. O Sequenciamento e análise contínua dos genomas de outras linhagens brasileiras de RABV são necessários para elucidar a origem e evolução desses vírus em seus reservatórios, bem como estudar sua relação filogenética e evolutiva com as outras linhagens de RABV distribuídas mundialmente.



DESCRIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DE RABDOVIRUS (LYSSAVIRUS, RHABDOVIRIDAE) NA AMÉRICA DO SUL – BREVES ASPECTOS FILOGEOGRÁFICOS

Bandeira RS, Barros BCV.

Programa de Pós Graduação em Virologia PPGV- IEC/SVS/MS. ANANINDEUA-PA, BRASIL

Correspondente: Renato da Silva Bandeira

E-mail: renatobandeira@gmail.com

O vírus da raiva (RABV) pertence à família Rhabdoviridae da ordem Mononegavirales que engloba pelo menos 10 gêneros, o qual se destaca o Lyssavirus, que inclui os RABVs. Os RABVs são encontrados em uma vasta gama de diferentes espécies de animais em todo o mundo sendo amplamente isolados de morcegos de diferentes localizações nas Américas. Possuem genoma de RNA negativo com cerca de 12 kb que codifica cinco proteínas. A proteína N é amplamente utilizada para a caracterização molecular e filogenética dos RABVs. Vários estudos tem buscado recuperar a origem evolutiva das cepas de RABVs ao redor do mundo, por sua importância na área da saúde humana e da sanidade animal, a compreensão dos fatores evolutivos podem auxiliar no planejamento estratégico dos programas de combate e prevenção à dispersão deste agente. O presente estudo tem como objetivo elucidar a evolução espaço-temporal das cepas de RABVs circulante no Brasil. Neste contexto foram utilizadas sequencias disponíveis na internet, baixadas pelo site do Virus Pathogen Resource (ViPR), abordando somente as circulantes nas Américas e um outgroup de fora das Américas para enraizar a árvore, sendo utilizadas na presente análise 168 sequências do gene N com 414pb. Para o alinhamento foi utilizado o programa Aliview. As análises filogeográficas foram calculadas pelo método Basyano pelo programa BEAST e seus resultados avaliados no Tracer e as árvores visualizadas no Figtree. Na análise dos dados obtidos observou-se que a atual cepa que circula nas Américas entrou no continente em 1872, sendo a primeira circulação descrita em animais selvagem sendo o mais provável em raposas encontradas no Chile, esta cepa posteriormente

infectou cães e raposas na Colômbia e no Brasil com um surgimento evolutivo estimado em 1901. Verifica-se a circulação por diversos países seguindo uma direção Sul-Norte através de rotas pela Cordilheira dos Andes, sendo os quirópteros os hospedeiros mais relacionados com a dispersão deste agente. Em 1958 o vírus infecta os bovídeos no Brasil provavelmente pela Guiana ou Guiana Francesa, e posteriormente infectam bovídeos na Argentina pelas rotas originárias do Brasil. Vale ressaltar a presença da infecção em todos as criações pecuárias no Brasil, com taxas de evolução medida para as atuais cepas circulantes no país em torno de $5,5E-4$ s/s/y. Com os dados comparativos podemos sugerir e afirmar que a rota de entrada desse vírus se dá principalmente pela região Norte, o que condiz com a intensificação da importância do controle estratégico e sanitário quanto a vacinação dos animais nessa região, que possuem grandes rebanhos muitas vezes em sistemas de criação extensivos, logo a fraca cobertura vacinal e o controle epidemiológico voltado aos reservatórios nessa região merecem importância para contribuir para o não surgimento de novos surtos, como os já relatados na região.





SESSÃO 5 - RAIVA EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

SESSION 5 - RABIES IN DOMESTIC ANIMALS

SESIÓN 5 - RABIA EN ANIMALES DOMÉSTICOS

.....
Moderadores/Moderators: Veronica Gutierrez e Laura Robinson

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Veronica Gutierrez



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

REINTRODUCCIÓN DE RABIA CANINA EN AREQUIPA, PERÚ: RETOS Y LECCIONES PARA LA RESPUESTA

Sergio E. Recuenco-Cabrera Ynes Monroy Talavera Ornela Chavez Inagaki Edith Zegarra Tejada Reyno Bernedo Coaquira Ismael Cornejo Rosello Dianderas Pedro Riega George Obregon Boltan

Corresponsal: Sergio E. Recuenco-Cabrera

E-mail: sergio.recuenco@gmail.com

En febrero de 2015 se confirmó la reintroducción de rabia canina en la zona declarada libre de rabia de la región Arequipa, al sur de Perú; la primera reintroducción reportada en el continente americano. Se presume que la reemergencia de esta epizootia se inició a finales de 2014, confirmándose a través de métodos moleculares la identidad con las cepas de rabia circulantes en Puno, zona de actividad rábica persistente en la frontera con Bolivia. Desde la identificación del brote, se han realizado intervenciones de búsqueda activa de casos caninos y vacunación canina masiva. Las actividades de respuesta fueron respaldadas con leyes de emergencia específicas y una inversión estatal directa aproximada de medio millón de dólares. Se reforzó recursos de diagnóstico local, y se vacunó 151,000 canes, reportando coberturas sobre el 80% de la población canina estimada en 29 distritos de Arequipa. A pesar de la intensidad de la respuesta, no se ha logrado detener el brote, llegando a 43 casos caninos confirmados acumulados hasta junio de 2016. Se examina el escenario de gobernanza, recursos, y políticas para control de rabia operado al momento de la reintroducción, para dilucidar las razones de la persistencia de la epizootia identificando las barreras principales que han impedido su control. Se evidencia la urgencia de disponer de tecnologías para una detección rápida de la rabia en campo, técnicas de vacunación masiva adecuada a escenarios con altas densidades de canes callejeros en áreas de topografía heterogénea, así como métodos modernos y confiables de estimación de población canina para la región.

THE INFLUENCE OF URBAN STRUCTURES ON FREE-ROAMING DOG ECOLOGY IN AREQUIPA, PERU

Castillo-Neyra R ^{1,2}, Paz-Soldan VA ^{3,4}, Bittenheim AM ⁵, Vargas-Maquera M ², Chipana-Ramos C ², Naquira C ², Levy MZ ^{1,2}

¹ Department of Biostatistics and Epidemiology, University of Pennsylvania Perelman School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, United States of America

² Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

³ Department of Global Community Health and Behavioral Sciences, Tulane University School of Public Health and Tropical Medicine, New Orleans, Louisiana, United States

⁴ Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

⁵ Department of Family and Community Health, University of Pennsylvania School of Nursing, Philadelphia, Pennsylvania, United States

Corresponding: Ricardo Castillo-Neyra

E-mail: ricardocasney@gmail.com

The city of Arequipa, Peru is in the midst of an urban rabies epidemic that was first identified in March 2015. This is the first known case of reintroduction of canine rabies into an area that had previously been declared free of transmission. At the Zoonotic Disease Research Center - Universidad Peruana Cayetano Heredia, we used the location data of positive and negative dogs diagnosed by the rabies surveillance system in the city of Arequipa to map the epidemic. Using a Geographic Information System that we developed, we added a layer of urban structures (e.g. water channels, city blocks, streets) to the surveillance data. We conducted spatial statistical analysis of both positive and negative dogs sampled by the rabies surveillance system and found that positive dogs are statistically associated with the city water channels. In addition, 75% of the rabies-positive dogs detected are owned dogs. To better understand the rabies risk to owned dogs, we studied the dog ecology in and around the water channels. On three consecutive days, we conducted a point transect survey along the city water channels and observed stray dogs living in and moving along the water channels, as well as owned dogs sharing that habitat and interacting with the stray during the daytime. Based on these findings,

we have designed an ecological study in the city of Arequipa to characterize the home range and movement of free-roaming dogs (both owned and stray), and to assess the influence of urban structures on their ecology. 38 stray and owned dogs will be tracked by GPS collars during 14 days. Study approaches and preliminary findings will be presented. We gratefully acknowledge the invaluable contributions of the Ministerio de Salud del Peru (MINSa) and the Gerencia Regional de Salud de Arequipa (GERESA) for sharing the data with the location of the dogs diagnosed by the surveillance system.



SOCIO-SPATIAL VACCINE UPTAKE PATTERNS ASSOCIATED WITH VACCINATION TENT LOCATION IN AREQUIPA, PERU

Castillo-Neyra R^{1,2}, Paz-Soldan VA^{3,4}, Bottenheim AM⁵, Borrini K², Toledo AM², Naquira C²,
Levy MZ^{1,2}

¹ Department of Biostatistics and Epidemiology, University of Pennsylvania Perelman School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, United States of America

² Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

³ Department of Global Community Health and Behavioral Sciences, Tulane University School of Public Health and Tropical Medicine, New Orleans, Louisiana, United States

⁴ Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

⁵ Department of Family and Community Health, University of Pennsylvania School of Nursing, Philadelphia, Pennsylvania, United States

Corresponding: Ricardo Castillo-Neyra

E-mail: ricardocasney@gmail.com

The city of Arequipa, Peru, an area that had previously been declared free of canine rabies, is in the midst of an urban rabies epidemic. The epidemic was first identified in March 2015; to date no human cases have been detected. However, continued transmission in canine populations puts the almost one million inhabitants of the city at risk of infection. Several mass dog rabies vaccination campaigns have been conducted since the beginning of the outbreak; unfortunately, pockets of unvaccinated dogs threaten to maintain transmission of the virus. In January 2016 we conducted a qualitative study to assess the barriers for participation in dog vaccination during mass rabies vaccination campaigns and found that the most important barriers were 1) logistics to access vaccination points (e.g. distance, timing, number of dogs, lack of collar and leash), and 2) information about vaccination (e.g. knowing about campaign, knowing location of the tent). We utilized this qualitative data to design a community-based study to assess spatial patterns associated with vaccine uptake during a mass vaccination campaign. During a 3-weekend mass vaccination campaign conducted within one of the rabies-affected districts in Arequipa we georeferenced the location of each rabies vaccination tent

deployed to the field. Shortly following the rabies vaccination campaign, we conducted a door-to-door survey in 5,400 houses in the district. The survey obtained demographic variables of dog owners (e.g. age, sex, education level), household level variables (e.g. composition and demographics of household members), dog care practices within the house (e.g. diet, veterinary expenses, walking practice, availability of collars and leashes), and knowledge about the recent mass dog vaccination campaign (e.g. whether and how they found out about the campaign). Geospatial variables such as shortest path distances taking into account city blocks and streets, and topography were created using a Geographic Information System previously developed by the Zoonotic Disease Research Center - Universidad Peruana Cayetano Heredia. Participation in the door-to-door survey was approximately 70%. Spatial dependence and spatial heterogeneity of vaccine uptake were evaluated. Implications of individual-, social- and spatial-level factors associated with vaccine uptake are discussed. Institutional Review Board approval was obtained for both the qualitative and the door-to-door survey from Universidad Peruana Cayetano Heredia, Tulane University, and University of Pennsylvania.



UTILIZING THE STEPWISE APPROACH TOWARD RABIES ELIMINATION IN GUATEMALA

Pieracci EG⁽¹⁾, Nakazawa Y⁽¹⁾, Moran D⁽²⁾, Alvarez D⁽²⁾, Bertrand G⁽³⁾, Camposeco L⁽³⁾, Motta M⁽⁴⁾, Thomae B⁽⁵⁾, del Aguila JP⁽⁵⁾, Cadena L⁽⁶⁾, Wallace RM⁽¹⁾

⁽¹⁾ Centers for Disease Control and Prevention, Poxvirus and Rabies Branch, Atlanta, GA, USA

⁽²⁾ Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala City, Guatemala

⁽³⁾ Programa Nacional de Zoonosis, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala City, Guatemala

⁽⁴⁾ Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala City, Guatemala

⁽⁵⁾ Ministerio de Agricultura, Guatemala City, Guatemala

⁽⁶⁾ Centers for Disease Control and Prevention, Global Disease Detection Branch, Guatemala City, Guatemala

Corresponding: Emily G Pieracci

E-mail: EPieracci@cdc.gov

Background. The Stepwise Approach toward Rabies Elimination (SARE) is an integrated monitoring and evaluation framework that has been used in multiple countries to assist in the elimination of canine-mediated rabies. The SARE is scored on a scale from 0 to 5, with stage 0 representing little or no epidemiological understanding of, or control efforts for, rabies; and stage 5 being free of canine-mediated rabies. The SARE evaluates seven categories important for canine-mediated rabies elimination: legislation; data collection and analysis; laboratory capacity; prevention and control; dog populations; cross-cutting issues; and information, education and communication. Methods. Representatives from Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Ministerio de Agricultura, the Centers for Disease Control and Prevention, the Pan American Health Organization, the Universidad del Valle de Guatemala, and Universidad de San Carlos de Guatemala attended a SARE workshop in Guatemala City in July 2016. A group assessment of each of the seven categories was performed by participants, and answers were scored binomially. Scores were summed for each of the categories, and an overall SARE score was determined using a previously developed SARE output tool. Results. Guatemala is currently at stage 0.5/5. In addition to calculating Guatemala's baseline stage, the SARE

emphasized the progress that Guatemala has made towards rabies control, such as including rabies as a notifiable disease in both humans and animals. The workshop also highlighted areas for further development that are integral to an effective rabies intervention strategy. For example, instituting a quality control system for rabies testing laboratories would allow Guatemala to increase their SARE stage to 2.5/5. Additionally, dog population studies are needed to ascertain the true number of dogs in the country in order to implement effective vaccination campaigns. Discussion. The SARE tool highlighted short-, mid-, and long-term goals for Guatemala over the next five years. Immediate needs include establishing a relationship with an international reference laboratory and conducting a dog population study, both of which Guatemala plans to do within the next year. Participants agreed to form an intersectoral working group to coordinate rabies activities in the country. Guatemala has appropriate infrastructure in place to advance through the SARE stages, but funding challenges have limited the breadth and depth of their current rabies control program. The SARE tool provided Guatemala with specific objectives to achieve during the next five years. With this information, Guatemala can refine their current rabies program and develop a comprehensive and effective rabies intervention strategy.

Financial support: for the workshop was provided by the US government.



LABORATORY SURVEILLANCE OF CANINE RABIES IN MEXICO PERFORMED AT INDRE (2008-2016)

Aréchiga-Ceballos Nidia, Chávez-López S, Sandoval-Borja A, Terán-Toledo R, Melo-Munguía M, Padilla-Medina I, Gómez Sierra M, Martínez-Solís D, Animas-Vargas I, Escamilla-Ríos B, Iguala-Vidales M, Vázquez-Pichardo M, Torres-Longoria B, López- Martínez I and Díaz Quiñones A.

Laboratorio de Rabia. Departamento de Virología. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. Ciudad de México. México.

Corresponding: Nidia Aréchiga-Ceballos

E-mail: nhyxbiogirl@gmail.com

After 27 years of rabies vaccination campaign to dogs and cats, urban cycle of rabies has been controlled and as important achievement human cases has decrease notably. Currently, Mexico is in the process of certifying the elimination of human rabies transmission by dogs. In this work we will present the perspectives regarding to epidemiological surveillance of canine rabies in Mexico. Since 2008 to present at the Rabies National Reference Laboratory, pertaining to the Ministry of Health, it has received 138 positive canine cases. The antigenic variants detected were: V1 Dog / Mongoose (82%), V8 Vampire bat / Skunk (1%), V9 *Tadarida brasiliensis mexicana* (1%), V11 Vampire bat (3%), V10 BCS Skunk (1%) and atypical variant (4%). Since 2011 began the detection of atypical antigenic variants in canines cases. In this period canine rabies has been present in 16 States: Baja California Sur (2), Chiapas (34), Ciudad de Mexico (1) Estado de Mexico (62), Guerrero (2), Hidalgo (11), Jalisco (1), Michoacan (1), Nuevo Leon (2), Oaxaca (1), Puebla (6), San Luis Potosi (1), Sinaloa (2), Tabasco (1) Veracruz (2) and Yucatan (9). Control strategies of rabies outbreaks that have been implemented were efficient, in Estado de Mexico it has not been detected a single case since 2012 and in the last 3 years (2013-2015) canine cases related to variant 1 were restricted to the states of Yucatan and Chiapas. Recently, some canine cases correspond to variants circulating in wild animals. In 2016, until epidemiological week 32 there have been only two cases of canine rabies, one in the state of Tabasco in which the virus isolated corresponds to the

V1 and genetically is within the lineage of dog rabies circulating in the State of Chiapas and another in the State of Baja California Sur. The antigenic variant in this case was V10 whose reservoir is the skunk *Spilogale putorius lucasana* that so far is restricted to this State of the country. Phylogenetic analyses of viruses of the past 3 years have shown that canine cases in Yucatan and Chiapas have two variants, the classic dog rabies which corresponds to antigenic variant 1, and the atypical antigenic reaction pattern, these viruses has been clustered together with the wild-living rabies virus. A reservoir for this variants could not be identified but skunks seem to have an important role acting as transmitters to other species.



HAITI AS A CASE EXAMPLE FOR THE IMPORTANCE OF UNDERSTANDING DOG POPULATIONS TO PLAN EFFECTIVE RABIES VACCINATION PROGRAMS

Ryan M. Wallace, Amber Dismer, John Boone, Yoshinori Nakazawa, Jesse D. Blanton, Kelly Crowdis, Max Millien

Corresponding: Ryan M. Wallace

E-mail: euk5@cdc.gov

Mass vaccination of dogs is the primary preventive measure for the control and elimination of canine rabies. Accurate estimates of the targeted dog population, and delivery of appropriate amounts of vaccine to that population, are critical to eliminate rabies. The Republic of Haiti has conducted government-run mass canine vaccination programs for over a decade, yet rabies still persists at one of the highest levels, globally. As of 2015 Haiti, had operated under the assumption that there were 450,000 – 500,000 dogs in the country; 22 people for every dog. However regional data and anecdotal experiences of large populations of free-roaming dogs suggested a much larger population. During a mass rabies vaccination campaign run from September 2014 - February 2015, 12 central-point vaccination stations were selected for post-vaccination evaluation and dog population estimation. All dogs vaccinated at these clinics received a collar and wax identification mark. After the 1-day vaccination program a team traversed a pre-determined transect near the vaccination sight and conducted a 2-day sight-resight dog count to estimate the free-roaming dog population. Surveys were conducted at the vaccination stations to estimate the owned and confined dog populations. A total of 981 unique dogs were sighted of which 134 were seen on both days of the count (13.7%). The total estimated dog population within the transect areas was 2,805 and the total estimated human population was 30,486 (human:dog ratio 11:1). When adjusted for urban and rural dog populations, the weighted human:dog ratio was 9:1. The national estimated dog population in Haiti was determined to be 1,179,984. Community-owned dogs were estimated

to comprise 57% of the dog population in urban areas, but only 16% in rural communities. Overall, 84% of Haiti's dog population was determined to be free-roaming. Evidence of vaccination was seen for 46% of dogs sighted during the population count, with vaccination coverage significantly lower in urban communities compared to semi-urban and rural communities (38.9% vs 59.9% vs 58.7%). Haiti has been planning mass rabies vaccination campaigns on the assumption that there were 500,000 dogs in the country. This study shows that there are likely twice as many dogs in Haiti than was previously estimated, and as a result, the country has likely been under-vaccinating dogs for years. This would explain why, despite registration records showing >80% vaccination coverage, previous vaccination efforts have not been successful in eliminating the disease. Further support of under-vaccination was seen in our documentation that fewer than half of free-roaming dogs had evidence of vaccination. This study is the first to capture both confined and free-roaming dog populations and represents a model to follow for countries struggling to accurately describe dog populations to follow.



COULD WE SEE AN END TO HUMAN DEATHS FROM CANINE RABIES BY 2030?

Taylor LH ⁽¹⁾, Nel LH ^(1,2)

¹ Global Alliance for Rabies Control, Kansas, USA

² Department of Microbiology and Plant Pathology, University of Pretoria, Pretoria, South Africa

Corresponding: Louise H Taylor

E-mail: louise.taylor@rabiesalliance.org

In December 2015 delegates at a global meeting organised by WHO, OIE, FAO and GARC, agreed to a goal to end human rabies deaths from canine rabies by 2030 and developed a global framework for rabies elimination. Over the last decade, evidence has been building about the feasibility of canine rabies elimination through the vaccination of dogs, and the number of success stories is growing - with Latin America leading the way. What is needed for Africa and Asia to follow suit? Several recent new tools, including the Stepwise Approach towards Rabies Elimination, Rabies Educational courses and a Pan-African surveillance database for rabies are being actively promoted and utilised through regional rabies platforms and in country workshops to support country efforts to improve rabies control. The End Rabies Now campaign, a global advocacy campaign has been launched with the aim to draw political and donor attention to the need to meet this ambitious deadline.





SESSÃO 6 - RAIVA EM ANIMAIS SILVESTRES

SESSION 6 - WILDLIFE RABIES

SESIÓN 6 - RABIA SILVESTRE

.....
Moderadores/Moderators: Richard Chipman e Sergio Recuenco

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Richard Chipman



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

INCIDÊNCIA DE RAIVA EM MORCEGOS INSETÍVOROS E A RELAÇÃO COM CUIDADO PARENTAL, MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, BRASIL

Rosa AR, Oliveira DC, Almeida MF, Martorelli LFA, Uieda W

Correspondente: Adriana Ruckert da Rosa

E-mail: arosa@prefeitura.sp.gov.br

Morcegos são conhecidos como importantes reservatórios do vírus da raiva no mundo. O Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo, no período de 1997 a 2015, diagnosticou 56 morcegos insetívoros positivos para raiva, pertencentes a 13 espécies e duas famílias, Molossidae e Vespertilionidae. A análise dos dados desse período mostrou que as reclamações dos munícipes em relação aos morcegos deste hábito alimentar aumentam na estação chuvosa (primavera/verão) coincidindo com o período de gestação, lactação e de cuidado parental dessas espécies. Neste período também foi observado um aumento do número de morcegos insetívoros positivos para raiva sendo que a maior incidência de raiva em fêmeas coincide com o aumento do número de jovens na colônia e do número de fêmeas lactantes (dezembro e janeiro). Em março aumenta a incidência de raiva em machos sugerindo que neste período os jovens começam a abandonar suas colônias de origem para recrutar fêmeas e formar suas próprias colônias, ocasionando disputas entre os machos jovens e alfas. Estes dois fatos causam estresse nas colônias de morcegos insetívoros gerando uma queda na imunidade e propiciando a disseminação do vírus da raiva. Este trabalho serve como referência para vigilância epidemiológica e para determinar as ações de manejo de colônias de morcegos insetívoros em área urbana, reforçando sobre a necessidade de desalojar as colônias somente na estação seca, visando não potencializar a situação de estresse e a disseminação do vírus da raiva.



STUDIES ON BAIT PREFERENCE AND ACCEPTANCE IN EUROPEAN WOLVES (CANIS LUPUS LUPUS)

Graesser N ¹⁾, Ortmann S ²⁾, Vos A ²⁾, Böer M ³⁾

1) University of Veterinary Medicine Hannover, GERMANY

2) IDT Biologika GmbH, Dessau – Rosslau, GERMANY

3) Zoo Osnabrueck GmbH, Osnabrueck, GERMANY

Corresponding: Ad Vos

E-mail: ad.vos@idt-biologika.de

Historically, dogs and wolves were considered to be the two main vector species for rabies in Europe, whereby wolf rabies seemed to dominate in rural areas. Related to the steady decline of the European wolf population, rabies cases in wolves decreased rapidly from the early 19th century onwards. In recent times, wolves are making their comeback in many Central and West European countries. The renewed presence of this large carnivore raises many new challenges associated with the growing number of conflicts it is causing, including its potential as rabies vector. Oral vaccination of different wildlife species against rabies has proven highly effective and this approach may also be applied for wolves in case necessary. Besides a safe and efficacious vaccine, a well accepted bait by the target species is another prerequisite for oral rabies vaccination. Hence, bait preference and acceptance studies in wolves (enclosure) and dogs (laboratory) were conducted. A newly developed egg-flavored bait that can be machine-produced was tested together with a bait made from natural products (intestine) and a presently used fox bait (fish meal). It was shown that there was a significant preference for the intestine bait compared to the fish meal bait in both wolves and dogs. However, no such difference was observed when the intestine bait was compared with the egg-flavored bait. Adding a rumen flour coating to the egg-flavored bait increased its detectability when distributed in the wolves' enclosure.

VIGILÂNCIA DA RAIVA SILVESTRE NO ESTADO DO AMAZONAS – 2010 A 2016

Campos ACR¹, Reinehr NR¹, Cardoso DP¹

¹ Fundação de Vigilância em Saúde-FVSAM, Brasil

Correspondente Ana Cristina Rodrigues de Campos

E-mail: campos.r.ana@gmail.com

A raiva é uma zoonose caracterizada clinicamente por uma encefalomielite aguda e fatal, transmitida ao homem através da inoculação do vírus rábico de animais infectados. Estratégias comprovadamente eficazes de controle da raiva, desenvolvidas por municípios e estados brasileiros, permitem um controle da raiva nas espécies domésticas (cães e gatos), e, conseqüentemente a diminuição de casos humanos transmitidos por cães. O novo desafio é o controle nas espécies silvestres, que vêm assumindo um papel importante como reservatórios e transmissores da doença. Este trabalho descreve o monitoramento da circulação do vírus rábico em animais mamíferos silvestres terrestres, desenvolvido pelo Estado do Amazonas, no período de 2010 a 2016. O Projeto inclui a vigilância passiva de espécies recolhidas em estradas e rodovias federais e estaduais, que ligam Manaus aos municípios do entorno, e que possuem acesso terrestre à Capital. Inclui também animais mortos doados pelos municípios do interior do Estado e Instituições parceiras, que mantêm ou recebem animais de vida silvestres para manutenção ou proteção, provenientes, em sua maioria, de criação em cativeiro ou decorrentes a caça. Durante os seis anos do Projeto, foram recebidos 268 animais silvestres terrestres, sendo: 11 recolhidos em estradas e rodovias e 257 doados (7 de municípios do interior e 250 de Instituições parceiras). Todos os animais foram encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses da Capital para retirada de material de eleição para o diagnóstico de raiva. Os exames foram realizados pelo Laboratório Central-LACEN-FVS, usando a prova de Imunofluorescência direta. A comprovação do diagnóstico foi feita com prova biológica no Instituto Evandro Chagas/PA, não

tendo sido detectado o vírus nas amostras coletadas. Embora anterior ao Projeto desenvolvido no Estado, vale ressaltar um caso diagnosticado positivo para raiva em Irara, Eira barbara. O animal agrediu uma pessoa, no ano de 2007, enquanto atacava os animais de sua propriedade. A grande biodiversidade da região amazônica, diferenciando-a das demais regiões brasileiras, o habitat e a interação do povo amazônico com espécies silvestres, residindo em áreas de floresta ou próximas à elas, torna necessário o monitoramento contínuo da circulação do vírus, para conhecimento e identificação das espécies relevantes e de interesse epidemiológico para transmissão da doença. A vigilância da raiva silvestre e o trabalho de educação em saúde, continuam sendo as principais medidas na prevenção de ocorrência de óbitos humanos por raiva, por ser esta uma importante enfermidade em Saúde Pública.



EPIDEMIOLOGÍA DE LA RABIA EN CHILE 2005-2015

Yung V

Corresponsal: Veronica Yung

E-mail: vyung@ispch.cl

Introducción la importancia de los animales silvestres en la transmisión de la rabia en Chile fue reconocida en el año 1985, cuando se detectó por primera vez rabia en murciélagos insectívoros de la especie *Tadarida brasiliensis*. A partir de entonces el patrón epidemiológico de la rabia en Chile se ha caracterizado por una epidemia en quirópteros objetivo establecer la situación epidemiológica y relación de los casos de rabia con áreas geográficas del país entre los años 2005 al 2015. Método se utilizaron los datos de 10.667 Muestras analizadas entre los años 2005 al 2015 en el laboratorio de la sección rabia, utilizando tablas dinámicas para cruzar la información y análisis de los resultados, georeferenciando para determinar áreas geográficas de riesgo. Resultados se detectó una tendencia creciente de la proporción de casos positivos en el período estudiado variando de un 3,1% en el año 2010 a un 7% en el año 2015. La distribución de murciélagos positivos por regiones en el periodo estudiado fue especialmente alta para tres regiones del país en la zona centro y sur del país. La especie *Tadarida brasiliensis* es la que presenta el mayor porcentaje de positividad en comparación con especies circulantes en el país. Al tipificar los casos positivos el mayor porcentaje (91%) correspondieron a variantes asociadas a murciélagos *Tadarida brasiliensis*, seguido por especies de *Lasiurus* sp., *Histiotus* sp. Y finalmente la especie *Myotis chiloensis* con menores porcentajes. Un caso encefalitis rábica en un paciente, sexo masculino de 24 años de edad, fue diagnosticado a través de anticuerpos neutralizantes tanto en suero como en lcr, pero la variante viral no fue identificada. El año 2015, se diagnosticó la muestra de un perro de 3 meses de edad con un cuadro clínico de encefalitis como positivo para virus rábico, al realizar la tipificación viral de la muestra, se identificó la variante

viral asociada a murciélago tadarida brasiliensis.. Conclusion en los últimos cinco años en chile, la rabia se presenta como una endemia asociada a las especies de murciélagos circulantes en el país, observándose transmisión viral interespecie entre murcielagos, a animales domésticos y al hombre, con algunas áreas geográficas donde existiría mayor cantidad de casos y mayor riesgo de transmisión.



RISK MODELING OF SKUNK DISTRIBUTION AS A PROXY TO RABIES SPREAD IN SOUTHEASTERN ARIZONA, USA

Algeo, T¹; Bergman, D²; Van Pelt, L²; Fink, M³; Fitzpatrick, K³; Chipman, RB¹

¹ USDA, APHIS, Wildlife Services National Rabies Management Program. Concord, NH,

² USDA, APHIS, Wildlife Services. Phoenix, AZ,

³ Arizona Department of Health Services. Phoenix, AZ

Corresponding: Timothy P Algeo

E-mail: Timothy.P.Algeo@aphis.usda.gov

Rabies cases in skunks along the Arizona (USA)-Sonora (Mexico) border have raised concerns among public health, agriculture, and natural resource agencies in both states and at national levels. As part of enhanced rabies surveillance activities, USDA, APHIS, Wildlife Services and its cooperators collected skunk samples (n=766) with geographical locations from Cochise, Pima, and Santa Cruz Counties in Arizona as part of enhanced rabies surveillance activities during 2008-2014. Of those with conclusive rabies test results, 41 (9.6%) striped skunks (*Mephitis mephitis*; n=426); 18 (6.3%) hooded skunks (*Mephitis macroura*; n=283); and 5 (33.3%) hog-nosed skunks (*Conepatus leuconotus*; n=15) were positive for rabies. No spotted skunks (*Spilogale gracilis*; n=39) were confirmed positive for the virus. Understanding the distribution patterns of vector species is critical to a full understanding of the ecology of wildlife rabies and strategic planning for surveillance and management intervention. Under situations of limited information, habitat suitability can be modeled to help form plans for surveillance and control by maximum entropy (Maxent) procedures. Known skunk locations were used to predict likely occurrence elsewhere. We modeled distribution of the four species of skunks (n=609) common along the Arizona border with Mexico relative to the National Landcover Dataset (NLCD2011), distances to streams and water bodies, precipitation, and temperature. For all four species, the variable with the most predictive power was the NLCD2011 (>50%). Shrub/scrub and developed habitats,

which frequently offer skunk foraging opportunities on lawns and vacant spaces between buildings were the most frequently used habitat types for all four species. Efforts to conduct enhanced rabies surveillance, or possible rabies management activities in southern Arizona, should be focused on these habitat types for optimal results.



AN EVALUATION OF TWO ORV STRATEGIES TARGETING RACCOONS IN SUBURBAN HABITATS IN THE US

Are R Berentsen, Erin M. Patrick, Chad Blass, Keith Wehner, Brett Dunlap, Bradley Hicks, Robert Hale, Richard B. Chipman and Kurt C. VerCauteren

Corresponding: Are R Berentsen

E-mail: Are.R.Berentsen@aphis.usda.gov

Seroprevalence of rabies virus neutralizing antibodies (rVNA) in raccoons (*Procyon lotor*) following oral rabies vaccination (ORV) with RABORAL V-RG® in the United States has annually averaged 30% since 1997, well below the 70% threshold that is generally recommended to interrupt rabies virus transmission. Questions remain regarding the impact of the bait application strategy towards achieving optimal herd immunity. We estimated rVNA seroprevalence and the number of ORV baits in raccoon home ranges under two baiting strategies: cluster baiting via helicopter and ground distribution by hand of individual baits in suburban Chattanooga, Tennessee, USA during 2013-2014. We established six 1 km² cells in each treatment area, and fitted up to two raccoons with GPS collars in each cell. We trapped and sampled raccoons in both treatment areas pre- and post-ORV for rVNA analysis. The ORV application density was 75 baits/km² for both treatment strategies, and a GPS location was recorded for each bait cluster and individual bait, respectively. We calculated the number of baits available to raccoons per square km of 95% kernel home ranges and 50% core areas post-ORV. Seroprevalence of rVNA in raccoons increased significantly from 15% to 24% post-ORV regardless of baiting strategy but did not differ by ORV treatment strategy ($P = 0.58$). Overall 95% kernel home range and 50% core area estimates were 74.7 and 17.0 ha, respectively ($n = 32$). Average bait application for 95% kernel home ranges was 82.8 and 63.6 baits/km² for helicopter and hand baiting sites, respectively. Average bait application for 50% core areas was 113.7 and 69.2 baits/km² for helicopter and hand baiting sites, respectively. All 95%

kernel home ranges were baited in both treatment areas, whereas 9/18 and 13/14 core areas were baited in the helicopter and hand distribution sites, respectively. Serology results suggest non-inferiority of the aerial helicopter strategy compared to the traditional ground ORV approach in urban/suburban environments. Overall, helicopter ORV delivered more baits per square km of raccoon home range than hand distribution, but was less effective in reaching core areas. Flight line spacing may need to be reduced from 750m for more effective delivery of baits in the home range of raccoons.

Special thanks to K. Baker, A. Brown, M. Craig, S. Dowlen, J. D. Freye, W. Guigou, J. Hamby, D. Lane, J. Mathenia, C. Muir, B. Sunderland and M. Wellman for exceptional field assistance. Funding was provided by the USDA APHIS WS National Rabies Management Program.





SESSÃO 7 - DIAGNÓSTICO

SESSION 7 - DIAGNOSTIC

SESIÓN 7 - DIAGNÓSTICO

.....
Moderadores/Moderators: Christine Fehlnr-Gardiner e Juliana Castilho

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Christine Fehlnr



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

COMPARISON OF RAPID SAMPLING TECHNIQUES FOR RABIES DIAGNOSTIC BY PAN-RABIES TAQMAN REAL-TIME RT-PCR

Condori-Condori RE, Smith T, Jackson F, Wadhwa A, Morgan C, Gallardo-Romero N, Li.Y.

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.

Corresponding: René Edgar Condori-Condori

E-mail: hws5@cdc.gov

Rabies is a neuro-invasive virus. In animals suspected to be rabid, the diagnosis is always done postmortem. Removal of the brain tissue being a critical step. The currently recommended diagnostics method, fluorescent antibody (DFA) test has strict sample collection requirements, usually requiring the opening of the skull to collect a full cross-section of the brain stem. For large animals, this procedure is time consuming and not practical in the field. Further, in 2014, 268 inconclusive and 2600 unsatisfactory samples were reported in the US. CDC rabies laboratory has implemented a pan-rabies Taqman based real-time RT-PCR assay LN34 which has demonstrated improved sensitivity and specificity, and is able to diagnose samples stored in the storage buffer or other similar conditions. In this study, we use rabies virus infected laboratory animals to evaluate protocols for rabies brain sample collection and sample storage. We are able to study in detail the approach of using a polyester fiber-tipped swab or impression on a FTA card (Whatman) to sample a cross-section of the brain stem to compare to standard collection of brain tissues. The samples collected on FTA cards were maintained at room temperature for 21 days to evaluate the short-term stability of total RNA. Real time RT-PCR LN34 and housekeeping gene beta-actin assays were used to evaluate samples collected by different methods. The median threshold cycle (Ct) value of β -actin for the brain stem tissue, used as a reference, was 19.3; while the median Ct values for samples collected on FTA cards and polyester fiber-tipped swab were 23

and 21.3. FTA cards maintained at room temperature for 21 days demonstrated consistently total RNA detectability. Based on the overall comparison of samples collected, we observed that a β -actin Ct value of 25 is a useful cut-off to determine the quality of samples collected for rabies diagnosis; higher values may indicate sample deterioration or insufficient sample to make diagnosis. FTA cards were useful for extending the stability of viral RNA for at least 21 days at room temperature, which is especially useful for sample collection under field conditions. For both swab and FTA cards, the RNA detectability is directly affected by the quality of the impressions. We observed significant differences on Ct values of β -actin on samples pressed firmly with those that had light impressions. Based on this study, we are able to develop an optimized protocol for the rapid brain sample collection and extended sample storage for rabies diagnosis, which are especially advantageous for laboratories with limited resources and in field investigations. Beta-actin assay and LN34 can be used to determine the sample quality and provide rapid rabies diagnosis.



DEVELOPMENT OF A HIGH-THROUGHPUT RABIES VIRUS NEUTRALIZATION ASSAY BASED ON GREEN FLOURESCENT PROTEIN (GFP) EXPRESSION

Greenberg L, Burgado J, Olson V, Xianfu W, and Satheshkumar PS

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Corresponding: Lauren Greenberg

E-mail: foe2@cdc.gov

Virus neutralization assay is essential for assessment of vaccine efficacy. The rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) currently used to measure rabies virus (RABV) neutralization antibodies is time consuming, labor intensive, and requires skilled personnel and containment facilities to perform. The objective of the present study is to develop a high-throughput neutralization test (HTNT) against RABV using a recombinant virus that expresses the green fluorescent protein (GFP) reporter. GFP expressed from RABV genome is targeted to the nucleus with a localization signal for efficient detection. The assay requires minimal amounts of material and provides a platform for rapid detection of RABV infection based on GFP fluorescence followed by virus entry and viral gene expression. Advantages include a high-throughput capability using either 96- or 384- well plates, allowing for more samples to be screened in one test. In addition, GFP based detection eliminates the need for traditional antibody staining for detection and allows the use of a high content imaging instrument to provide automatic detection and quantification. In contrast, the traditional method (RFFIT) requires the manual examination of twenty distinct microscopic fields per well using a fluorescence microscope at $\times 200$ magnification to score the virus-infected cells and the testing personnel mathematically calculates the RFFIT titer using the Reed Muench method. The characterization of the recombinant RABV-GFP and results from optimization of the high throughput assay will be presented.

EVALUATION OF A QUALITY MANAGEMENT SYSTEM FOR RABIES TESTING

Ma XY, Wallace R, Blanton J, Petersen BW, Orciari L, Yager P, Niezgodna M, Franka R, Reynolds M, Li Y, Satheshkumar PS, Olson V

Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, United States

Corresponding: Xiaoyue Ma

E-mail: hjv4@cdc.gov

Quality management plays a critical role in public health laboratories. An effective quality management system ensures that public health laboratories produce accurate and reliable test results that are indispensable in a clinical or public health setting. The CDC Rabies Laboratory is a designated World Organization for Animal Health (OIE) Reference Laboratory for Rabies and a WHO Collaborating Center for Research and Reference on Rabies. We have designed and implemented a unique monitoring system to manage rabies testing throughout the pre-analytic, analytic, and post-analytic processes, including the initial receipt of specimen, sample analysis and reporting of test results. Major test methods used for rabies diagnosis are direct fluorescent antibody test (DFA), reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), real time RT-PCR, indirect fluorescence assay (IFA), and the rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT). A standardized rabies testing work process and working group were established to ensure quality rabies testing and timely reporting of accurate results. We assessed the effectiveness of the quality management system established in compliance with the Clinical Laboratory Improvement Amendment (CLIA), which regulates the examination of human samples in the United States. A 100% accuracy of human rabies diagnosis has been achieved with a turnaround time less than 3 days. This presentation describes an evaluation of comparability between CLIA and ISO 17025 according to the OIE's requirement that reference laboratories achieve or maintain accreditation to the ISO 17025, or equivalent quality management system, by December 2017.

EVALUATIONS OF RABIES DFA INCONCLUSIVE SAMPLES USING PAN-RABIES REAL-TIME RT-PCR ASSAY LN34

Ashutosh Wadhwa, Condori-Condori RE, Wilkins K, LeMasters E, Yager P, Monroe B, Wallace R and Li Y

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA

Corresponding: Ashutosh Wadhwa

E-mail: wnq0@cdc.gov

The direct fluorescent antibody (DFA) test is the gold standard for rabies antigen detection. However due to shortages of high-quality reagents and conjugates or non-specific interactions, a large number of rabies inconclusive results were observed recently. In 2014 268 inconclusive and 2605 unsatisfactory samples were reported by 50 states. DFA inconclusive samples require additional confirmation testing and may add unnecessary burdens to the public health responses. The rabies RT-PCR assays can provide definitive answers for DFA inconclusive samples. However, current rabies specific RT-PCR assays usually need additional amplicon sequencing confirmation due to the frequent non-specific amplification, which slows down the diagnostic process and are labor intensive. Since 2015, we started to implement a new pan-rabies Taqman based real-time RT-PCR assay LN34 for the clinical sample diagnosis and have significantly improved our diagnostic process. Assay LN34 is able to detect all the rabies variants and 13 other lyssavirus species in the CDC repository. With increased sensitivities and specificities, assay LN34 is able to be used to identify RABV infection in samples tested inconclusive by DFA test, samples unsuitable for DFA test, saliva and skin biopsy for the ante-mortem cases of 142 clinical samples at CDC rabies laboratory. We tested a total 89 DFA inconclusive samples: 7 samples are positive by assay LN34 and 82 samples are negative, these results confirmed by the hemi-nested RT-PCR assay. We

have tested 23 animal brain samples which were collected and stored at less than ideal conditions and were suggested to be inappropriate for DFA test. All the 23 samples were negative by assay LN34 and showed strong positive beta-actin assay Ct values. We are able to use the beta-actin specific real-time RT-PCR assay as the negative control to evaluate the quality of the samples tested. Our results show that Ct value of both the assays LN34 and beta-actin can be very useful to set guidelines for appropriateness of the samples and determine potential contaminations from sample processing or assay set-up. Based on the results from testing 500 samples, we have developed cutoff values of positive, inconclusive, and negative samples for both assays LN34 and beta-actin. A samples will be considered rabies positive if both assays LN34 and beta-actin are positive. Sample will be considered rabies negative if assay LN34 is negative and beta-actin is positive. A sample will be declared inconclusive if it does not fall in the above suggested categories and will be recommended for repeat or additional testing. We are expanding the validation of assay LN34 in multiple states and international laboratories and evaluating the algorithm and cut-off values of using assay LN34 for rabies diagnostics. Assay LN34 has provided sensitive and specific diagnostic results and will be able to diagnose DFA inconclusive samples.



EVALUATION OF THE RAPID FLUORESCENT FOCUS INHIBITION TEST TO SUPPORT RABIES VACCINE DEVELOPMENT

Luo P, Timiryasova TM, Singer A, Zheng L, Zedar R, Garg S, Brown M, Hu BT
Sanofi Pasteur, Discovery Drive, Swiftwater, PA, USA

Corresponding: Tatyana Timiryasova

E-mail: tatyana.timiryasova@sanofipasteur.com

Rabies rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) is the most widely used and well accepted cell-based assay for detecting and quantitating rabies virus neutralizing antibodies (RVNA) in human serum to determine if the antibody threshold of 0.5 IU/mL, as defined by the World Health Organization as an indicator of an adequate adaptive immune response for rabies, is achieved. To evaluate the conditions that may impact the RFFIT performance in sensitivity, accuracy, precision, and robustness, several design of experiments (DOE) were used. The following assay parameters were evaluated: a) two-fold versus five-fold serial dilution(s) of heat-inactivated serum samples using an automated microplate pipetting system, b) the impact and the optimal diethylaminoethyl (DEAE) dextran concentration for enhancing the rabies virus infectivity of the baby hamster kidney (BHK)-21 cells, c) the possible role of complement (C') in RVNA detection; d) the number of passages of BHK-21 cells that to be used in the RFFIT, and e) the robustness of RFFIT. The DOE results showed that: a) two-fold serial dilutions of serum samples improved RFFIT accuracy and precision; b) a minimum of 10 mg/mL but no more than 15 mg/mL of DEAE is needed to enhance the rabies infectivity of BHK-21 cells; c) non-specific killing of rabies virus was observed when either baby rabbit C' or guinea pig C' from 0.3% to 20% was added to the test, and no significant impact on the RFFIT sensitivity was observed when < 0.3% C' was used, thus complement was not included in the optimized RFFIT; d) BHK-21 cell growth kinetics study and testing in RFFIT with passages 68, 78, and 88 showed that the assay was reproducible and robust using cells up to 20 passages (58-78) after defrost.

To evaluate the impact using an imaging reader, fluorescent fields from 60 samples (total 480 chambers) were counted both under the microscope and from the scanned images from a cell imaging reader. The statistical analysis of the ED50 of these 60 samples showed that: a) the concordance slope was 1.03; and b) the percent difference of the geometric mean of the ED50 titers determined by two ways of reading was 4.6% with 100% percent agreement (60/60 samples tested). In addition, the cell imaging reader used for scanning slides provides traceability and permanent records of the raw data meeting Good Clinical Laboratory Practice requirements. In conclusion, the optimal rabies RFFIT conditions were selected to accurately and precisely measure specific RVNA in human serum samples. The RFFIT has been further qualified and validated for its intended use.

Acknowledgments: The authors wish to thank the rabies laboratory testing team within Global Clinical Immunology, Sanofi Pasteur, Inc., Swiftwater, for all their work in supporting the development/ optimization of the assay. The authors would like to thank Tim Voloshen for review of the abstract. Additional thanks go to Dr. Susan Moore at the Kansas State Veterinary Diagnostic Laboratory for her scientific advice, reading slides using a fluorescence microscope in order to compare to the cell imaging reader.

Financial Support: This study was conducted at Sanofi Pasteur Inc., Swiftwater, USA.



INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN THERAPY CONFOUNDS AN ANTE-MORTEM DIAGNOSIS OF HUMAN RABIES IN THE UNITED STATES

Ellison, JA, Vora NM, Niezgodá M, Smith TG, Yager PA, Orciari LA, Mauldin A, Satheshkumar OS, Olson VA

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA Field Services Branch, Division of State and Local Readiness, Office of Public Health Preparedness and Response, Atlanta, GA, USA

Corresponding: James A. Ellison

E-mail: JEllison@cdc.gov

Rabies is an acute encephalitis that conventionally progresses to coma and death within 10 days after onset of symptoms. Rabies often presents in paralytic form, characterized by non-specific features similar to a number of neurologic disorders. A definitive laboratory diagnosis of rabies can most reliably occur post-mortem from tissues collected at autopsy. Human rabies is a nationally notifiable disease in the US, and has public health implications for healthcare workers providing direct patient care. In the US, a clinical diagnosis of rabies can be ruled-out through several ante-mortem laboratory tests. One of the criterion for laboratory diagnosis is the identification of rabies virus neutralizing antibodies (RVNAs) in the serum of an unvaccinated person with a clinically compatible history, therefore, an accurate interpretation of serological markers is imperative. Since 2013, our laboratory has detected RVNAs in the sera of ten unvaccinated patients referred for testing. Despite meeting the case definition for human rabies, these individuals are clearly not infected with Rabies virus (RABV). Upon review, it was identified that all patients had received intravenous immunoglobulin therapy. Intravenous immunoglobulin (IVIG) is indicated for the treatment of several categories of disease, and administered as an infusion consisting of a heterogeneous biologic derived from pooled plasma collected from over 1000 human donors. Passively transferred antibodies in IVIG may impact a patient's response to inactivated

RABV vaccines and could confer temporary passive immunity. Detection of RVNAs in patients referred for rabies rule-out testing led to additional laboratory investigations of the individual IVIG preparations. Commercially available lots of IVIG were obtained from the manufacturer or referring hospital and tested against RABV and two lyssaviruses representing phylogroups II and III. All lots of IVIG tested neutralized RABV with titers ranging from 0.04 to 0.46 IU/ml, and significantly less neutralization with other lyssaviruses. Our findings indicate the use of caution when interpreting titers of RVNAs in patients receiving IVIG therapy. The diagnosis of rabies should always be considered in combination with all other laboratory tests including testing of serum samples taken prior to IVIG administration.





SESSÃO 8 - VACINAS E CONTROLE DE VACINAS

SESSION 8 - VACCINES AND VACCINE CONTROL

SESIÓN 8 - VACUNAS Y CONTROL DE VACUNAS

.....
Moderadores/Moderators: Neuza Gallina e Luis Lecuona

Nota chave/Keynote/Noticia Clave: Neuza Gallina



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

PERSISTENCE OF RABIES VIRUS-NEUTRALIZING ANTIBODIES AFTER VACCINATION OF RURAL POPULATION FOLLOWING VAMPIRE BAT RABIES OUTBREAK IN AUGUSTO CORREA, PARÁ, BRAZIL

Medeiros R¹, Jusot V², Houillon G², Rasuli A², Martorelli L³, Kataoka AP³, Ben Mechlia M⁴, Le Guern A-S⁴, Rodrigues L¹, Assef R¹, Maestri A¹, Lima R⁵, Bosch-Castells V², Tordo N⁴

Affiliations:

- ¹ Universidade Federal do Pará e Instituto Evandro Chagas, Belém-Pará, Brasil
- ² Sanofi Pasteur, Lyon, France
- ³ Centro de Controle de Zoonoses, Sao-Paulo, Brasil
- ⁴ Institut Pasteur, Paris, France
- ⁵ Secretaria de Saude do Estado do Pará, Brasil

Corresponding: Noël Tordo

E-mail: ntordo@pasteur.fr

Animal control measures in Latin America have decreased the incidence of urban human rabies transmitted by dogs and cats; currently most cases of human rabies are transmitted by bats. In 2004–2005, rabies outbreaks in populations living in rural Brazil prompted the widespread vaccination of exposed and at-risk populations. In May-June 2005, following 15 deaths, mostly children, in Augusto Correa, Pará State, a rural community of 53,000 people dispersed along the Amazon estuary, more than 3,500 inhabitants aged 2 to 60 years received either post-exposure (PEP) or pre-exposure (PrEP) prophylaxis with purified Vero cell rabies vaccine (PVRV). We evaluated the persistence of rabies virus-neutralizing antibodies (RVNA) annually for 4 years post-vaccination. The aim was to measure the impact of rabies PrEP and PEP in a population at risk living in a rural setting to help improve management of vampire bat exposure and provide additional data on the need for booster vaccination against rabies. As expected when conducting long-term follow-up in real-life conditions and in somehow remote places, our study has a number of limitations which are inherent to research undertaken out of clinical setting on neglected tropical diseases such as rabies. This prospective study was

conducted in 2007 through 2009 in a population previously vaccinated in 2005; study participants were followed-up annually. An RVNA titer >0.5 International Units (IU)/mL was chosen as the threshold of seroconversion. Participants with titers ≤ 0.5 IU/mL or Equivalent Units (EU)/mL at enrollment or at subsequent annual visits received booster doses of PVRV. Adherence of the participants from this Amazonian community to the study protocol was excellent, with 428 of the 509 (84%) who attended the first interview in 2007 returning for the final visit in 2009. Remarkably, 5% to 7% of the surveyed population was potentially re-exposed one to several times each year through animal bites (mainly dogs also bats, cats, monkeys). The long-term RVNA persistence was good, with 85–88% of the non-boosted participants evaluated at each yearly follow-up visit remaining seroconverted. Similar RVNA persistence profiles were observed in participants originally given PEP or PrEP in 2005, and the GMT of the study population remained >1 IU/mL 4 years after vaccination. Overall, the RVNA level and persistence were better in young population than in the elderly and in females than in males, particularly the 16- to 40-year-old males who had lower GMTs and seroprotection rates. At the end of the study, 51 subjects (11.9% of the interviewed population) had received at least one dose of booster since their vaccination in 2005. This study and the events preceding it underscore the need for the health authorities in rabies enzootic countries to decide on the best strategies and timing for the introduction of routine rabies PrEP vaccination in affected areas.

Financial support: Sanofi Pasteur



RABIES VETERINARY VACCINE MANUFACTURED IN BRAZIL. CONTROL TESTS AND STRAINS ANALYSIS

Kotait I¹, Carrieri ML², Fuches RMM², Gallina NMF²

¹ Venco Saúde Animal, Paraná/Brasil, ² Instituto Butantan, Secretaria de Estado da Saúde/ São Paulo/Brasil

Corresponding: Maria Luiza Carrieri

E-mail: mlcarrieri@gmail.com

Animal rabies is still a serious public health problem in Brazil. The main reservoirs are bats (rural rabies) and dogs (urban rabies). Rural rabies control measures are based on the reduction of the number of bat population and vaccination of susceptible animals; for urban rabies, among other actions, the massive vaccination campaigns, coordinated by the Health Ministry is one of the most important activities. Considering these aspects, the vaccines' control is important to reduce the number of animal rabies disease in Brazil, once it ensures the quality and effectiveness of the product. The Brazilian Agriculture Ministry requires the sterility, residual virus and potency tests for the rabies vaccine quality control. The potency test used is the NIH (National Institutes of Health) that utilize a large number of mice. This method has low reproducibility, and has been replaced in many countries by other techniques. For minimizing the variability of the potency test (NIH) it is necessary a standardizing of biological material (rabies virus challenge strain and reference vaccine). Currently, an alternative to determine the vaccine potency is the serological test approved by the European Pharmacopoeia. In this test, mice are immunized with rabies vaccine and the potency is determined by the levels of antibodies produced by the animals. There is a significant reduction in the number of mice used in the test and eliminates the intracerebral challenge. Other aspects to be considered are: the control of strains used for rabies veterinary vaccines and the tests for viral titration and antirabies antibodies levels determination that still use mice in vaccine veterinary manufactures. The use of cell culture techniques to replace tests in animals is necessary, once the lack of control in the vaccines

release affects the safety and potency of this product. The authors propose, for ethical, scientific and cost reasons, that the official agencies responsible for rabies control in our country encourage the studies for development and standardization of “in vitro” and molecular techniques to rabies vaccines control tests. The VCRI (Vaccine Control Reference Institution) should monitor the rabies virus strains used by the vaccine manufacturers; stimulate scientific training of technicians to the virus neutralization in BHK21 cell culture test (RFFIT or FAVN), serological test for potency and to standardize ELISA test for the quantification of viral glycoprotein. In conclusion, the establishment of these actions and techniques proposed above are essential and fundamental to obtain veterinary vaccines with quality similar to rabies vaccine produced for human use , to ensure more accurate results in the quality , potency and safety tests, and, mainly, to minimize the use of laboratory animals, according to the world trend.

Keywords: rabies vaccine, control tests



RABIES VACCINE STABILITY TESTING: VIRAL PARTICLE COUNTING BY NANOPARTICLE TRACKING ANALYSIS AND ANTIGENICITY MEASURED BY ELISA REFLECT IN VIVO NIH POTENCY

Guinet-Morlot F, Clenet D, Moreno N, Riou P, Saulnier A

Sanofi Pasteur, Marcy l'Etoile, France

Corresponding: Françoise Guinet-Morlot

E-mail: Francoise.Guinet@sanofipasteur.com

Vaccine stability testing should involve methods able to detect changes in vaccine properties, which may be a direct or an indirect indicator of vaccine immunogenicity/potency or safety. During the development of its Purified Vero rabies Vaccine Next Generation (PVRV-NG), Sanofi Pasteur has developed a validated ELISA to quantify the rabies virus glycoprotein G and, for characterization, a new Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) biophysical assay which determines the size distribution and the number of rabies viral particles in real time. To be an effective indicator of rabies vaccine potency, ELISA testing should specifically recognize the G protein native form since the ability of the rabies virus to induce both virus neutralizing antibodies and protection depends on virus structure preservation. The Sanofi Pasteur ELISA involves two previously described neutralizing conformational mAbs, WI1112 and D1-25. It detects specifically the G protein native form but not unfolded or chemically modified forms, thus discriminating between potent and sub-potent vaccine lots. Moreover, this ELISA showed good concordance with the NIH potency results in a dose-ranging study. Results of an international feasibility study led to the selection of this ELISA for the future EDQM collaborative study aimed at replacing the rabies vaccine NIH in vivo potency test. The aggregation state of a viral suspension, usually estimated through light scattering techniques, is a key indicator of vaccine stability. Individual tracking of Brownian motion of nanoparticles (NTA) has highly improved

the resolution of this type of technology while providing particle counting capability. While the size distribution profile of the viral particles in the rabies vaccine was centered under a single peak around 150 nm, the physical viral particle counts were shown to correlate with genomic, antigenic and NIH titers. As forced degradation studies are usually performed to assess antigen stability over time, the rabies vaccine was subjected to different incubation temperatures from 5°C to 60°C over one month and virus degradation kinetics were assessed. Particle size polydispersity and virus count decreases were reported with exposure to increasing temperatures over time, while antigenic titers dropped. Using advanced kinetics modelling of the virus antigenicity loss, stability over at least 3 years at 5°C was predicted. Result concordance between a biophysical orthogonal method aimed at counting/sizing viral particles (NTA), antigenic (ELISA) and NIH titers was demonstrated, thus showing that the ELISA developed by Sanofi Pasteur is a good candidate to replace the in vivo NIH test. Finally, the kinetic modelling approach applied to forced degradation data appears to be a relevant tool to evaluate long-term product stability.



BAIT ACCEPTABILITY AND – HANDLING OF DOGS IN NAVAJO NATION (USA)

Bender S ¹⁾, Bergman D ²⁾, Vos A ³⁾, Chipman R ⁴⁾

¹⁾ Navajo Nation Veterinary Program, USA

²⁾ Arizona Wildlife Services, USA

³⁾ IDT Biologika GmbH, GERMANY

⁴⁾ National Rabies Management Program, USA

Corresponding: Ad Vos

E-mail: ad.vos@idt-biologika.de

Mass parenteral vaccination campaigns remain the cornerstone of dog rabies control. Nevertheless, other interventions have potential value as complementary tools. For example, oral rabies vaccination (ORV) of dogs could be an integral tactic to increase vaccination coverage, especially in areas where the free-roaming segment of dog population is sizeable. To meaningfully augment parenteral vaccination coverage through ORV, a well-accepted bait that guarantees release of the vaccine in the oral cavity is required. Another pre-condition is that the vaccine-bait can be produced commercially with consistent quality assurance. In June 2016, a newly developed egg-flavored bait was tested by hand-out model near Chinle, AZ on the Navajo Nation in the Southwestern United States. Two additional bait types that had previously been tested in dogs were included in this study: a natural bovine intestine bait sourced locally with previous good acceptance and an mass produced fish meal bait that that was not well accepted by dogs. Also, two different blister types that contain the oral vaccine were tested: a PVC hard blister and a biodegradable soft blister. Overall bait uptake was relatively high (81.3%; n=546). The intestine bait had significantly ($p=0.02$) higher acceptance than the other two baits. However, in contrast to previous studies, the fish meal bait was well accepted (81.1%), suggesting that local bait preference studies could be critical for successful ORV campaigns. The overall assessment of the placebo vaccination based on colored water media indicated that the intestine bait was the most efficient

in oral delivery of blister contents (74.5%), followed by the egg-flavored bait (68.0%) and the fish meal bait (54.3%). Blister type did not have an effect on the outcome of the vaccination attempt. In addition, consumption of the different bait types was not influenced by level of supervision: restricted or free-roaming. This study illustrates that a potentially significant portion of a dog population may be vaccinated orally to achieve success in areas where parenteral vaccination alone may not reach vaccination thresholds to achieve rabies management objectives.



INDUSTRIAL PRODUCTION OF VETERINARY VACCINE USING CELL CULTURE IN PERFUSION SYSTEM

Zeferino AS¹, Sanson RK¹, Batista E¹, Martins PFL¹, Correia BL¹, Gimenez APL¹, Scheuer T¹, Salomão JC¹, Felix JC¹, Silva JC¹, Preto AA¹

¹ Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR- Curitiba/ Paraná-Brasil

Corresponding: Aurelio Santo Zeferino

E-mail: ausantozef@gmail.com; aurelio@tecpa.br

The immunization of dogs and cats in Brazil was carried out until 2009 with modified Fuenzalida-Palacios rabies vaccine, which was produced in the brain of newborn mice. Due to regulatory and ethical requirements, TECPAR modified its production platform and started to develop vaccine in cell culture, more effective and safe. BHK-21 C13 cells (Baby Hamster Kidney) were grown in suspension at 37 ° C and infected with PV virus (Pasteur virus) in 75L stirred bioreactors (New MBR) with a internal perfusion device. After the cell infection, the amount of fetal bovine serum in culture medium was reduced to 1%, the temperature adjusted to 33 ° C and pH, pO₂, temperature, cell concentration, perfusion rate and viral titer were controlled. Cell infection was monitored by direct immunofluorescence and the viral suspension were harvested when the pattern of fluorescence of the cells reached 75%. Adjustments in perfusion rate were performed to maintain this minimum percentage of infection. A sample of 10 fermentations carried in 2015 were analyzed, in which was possible to harvest at least 10 days after infection an average volume of 630L per process. The density of viable cells after infection ranged from 1.25 x 10⁶ to 3.00 x 10⁶ cells /mL and the average viral titer obtained in the samples used in formulation was 10^{5.56} FFD50/mL. The viral suspensions were inactivated with β-propiolactone, formulated with aluminum hydroxide and thimerosal and tested for pH, sterility, viral inactivation, safety, potency and protein quantification. Vaccines produced by this methodology had the average potency of 3.3 IU/mL (NIH method) and less than 500 µg /mL of total

protein concentration, meeting the recommended requirements of national and international regulatory agencies.

Acknowledgment: To TECPAR's Executive Directors, TECPAR's Quality Control Laboratory and TECPAR's Vaccine Production Laboratory.



CONSISTENT PRODUCTION OF A CHROMATOGRAPHICALLY PURIFIED VERO CELL RABIES VACCINE

Palacios CA^{1,3}, Chiappini S^{1,3}, De Nichilo A^{1,3}, Nuguer E¹, Montiel D¹, Larghi OP², Parola AD^{1,3}

¹ Fundación Pablo Cassará, Saladillo 2452, Buenos Aires, Argentina;

² Laboratorio Pablo Cassará, Saladillo 2452, Buenos Aires, Argentina

³ Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César ICT Milstein CONICET. Saladillo 2468, Buenos Aires, Argentina.

Corresponding: Carlos Adolfo Palacios

E-mail: cpalacios@fundacioncassara.org.ar

In Latin America the production of human rabies vaccine and other essential vaccines faces a number of challenges, including the initial investment, capacity and trained human resources, required to bring a vaccine to the market. In a previous report, we have demonstrated the rabies virus production, which inactivated retained good antigenicity determined by the NIH potency test, complying with the European Pharmacopeia (Ph. Eur.) in terms of purity. In the current vaccine development, the setting up of specifications for antigen production is part of an overall control strategy, designed to ensure the product quality and consistency. The aim of the present work is to show a consistency approach of human rabies vaccine production, using a bioreactor cell culture and viral production (upstream) followed by purification steps (downstream). The analysis was performed using the developed tools and techniques in our laboratory, to follow the whole process, in order to guarantee the quality, efficacy and the safety of the product. During the upstream steps, sterility, cell culture metabolic parameters, and cellular density was determined, showing a relative consistency in cell culture, at the optimal density for infection ($3 \times 10^6 \pm 3 \times 10^5$ cells/ml in 5 to 6 days). During the infection we found a global viral yield of $9 \times 10^4 \pm 2 \times 10^4$ total IU of glycoprotein/lot. We also monitored the progress of infection by immunofluorescence and viral titration. Regarding to the downstream process, which involved a harvest clarification,

concentration/diafiltration (TFF) steps, and two chromatographic steps, we analyzed the consistency of our results, determining the antigen recovery in all the purification platform, reaching $89\pm 17\%$ after the TFF, $83\pm 6\%$ for ion exchange and $87\pm 10\%$, for size exclusion chromatographic steps, respectively. In the TFF, the total protein was reduced in a $97\pm 2\%$ level eliminating mainly bovine serum albumin (BSA). Cellular derived DNA and BSA contaminants, were determined in all the purification steps, resulting at the end of the downstream process, in levels that were below <10 ng/dose and <50 ng/dose, respectively accordingly to Ph. Eur. recommendations. The overall process yielded different lots of a highly purified antigen, which presented protective levels in NIH tests. Additionally, we demonstrated that the obtained antigen contained low endotoxins levels, and complies with the mouse and guinea pig safety tests, and the rabbit pyrogen test, in accordance with regulatory guidelines. The consistency analysis in the cell culture, infection and purification steps presented here, allowed us to set up useful parameters to monitor the whole process and to establish a continuous improvement schedule, conducting to the validation of the different steps. As a concluding remark, we demonstrated that the development of vaccines in Latin America is not only a possible fact, but also it could collaborate to promote local vaccine accessibility in the region.



DESARROLLO DE VECTORES NO REPLICATIVOS PARA LA EXPRESIÓN IN VIVO DE LA PROTEÍNA G DEL VIRUS RÁBICO, COMO ESTRATEGIA PARA LA OBTENCIÓN DE VACUNAS

Garanzini, D. ^{1,2}; Micucci, M. ¹; Jurado, R. ¹; Del Medico Zajac MP. ^{2,3}; Perez O. ¹, Calamante G ²

¹ INPB ANLIS Malbran CABA Bs As Rep Argentina;

² Inst de Biotecnología CICVyA INTA Castelar Bs As Rep. Argentina;

³ CONICET Rep. Argentina

Corresponsal Débora Garanzini

E-mail: debygaranzini@gmail.com

La estrategia de control de la rabia en la RA se basa en el empleo de vacunas que se basadas en virus rábico inactivado (producidas por amplificación viral en sustratos celulares), que si bien son efectivas, presentan ciertas desventajas por la composición indefinida del antígeno, manipulación de grandes cantidades del patógeno en las plantas de producción, necesidad de estricta cadena de frío y la dificultad para diferenciar animales infectados de vacunados. Estos inconvenientes se pueden superar desarrollando vacunas biotecnológicas basadas en microorganismos vivos o vacunas génicas, diseñadas racionalmente para que sean seguras y efectivas para la prevención de enfermedades infecciosas. Se ha reportado la utilización de vectores virales (replicativos o no) para la expresión de la glicoproteína (RG) del virus rábico, principal antígeno responsable de inducir inmunidad protectora en el hospedador. En particular, los vectores basados en poxvirus y adenovirus ofrecen numerosas ventajas para el desarrollo de vacunas: estabilidad (física y genética), administración por diferentes vías, inducción de respuestas inmunes humorales y celulares protectoras e inmunidad duradera. Además, se utilizan combinados en esquemas de inmunización heterólogos. El objetivo de este trabajo es obtener y caracterizar molecularmente vectores que porten y expresen la secuencia codificante de la glicoproteína de RV basados en virus vaccinia Ankara modificado (MVA), adenovirus (AdHu5) y vacuna génica

(plásmidopCI-Neo). Para obtener el adenovirus que exprese la glicoproteína de RV se utilizó la tecnología de clonado Gateway® (Life-Technologies). Se amplificó por PCR el gen RG, se clonó en el vector pCR™8/GW/TOPO® (vector de entrada) y se introdujo en el vector de destino (pAd/CMV/V5DEST™) por recombinación sitio específica. El vector pAd-RG se transfectó en células 293Ay se identificó el virus recombinante por la presencia de efecto citopático. Para obtener el virus MVA-RG se clonó el gen RG en el vector de transferencia (VT) VT-Mtk-GUS (obtenido previamente en nuestro laboratorio) y se transfectaron fibroblastos de embrión de pollo previamente infectados con MVA. Los virus recombinantes se aislaron por su capacidad de formar placas de lisis azules en presencia del sustrato de la enzima GUS (X-Gluc). Además, el gen RG se clonó direccionalmente en el vector pCI-Neo río abajo del promotor de CMV. La presencia y expresión del gen de interés se confirmó en células infectadas o transfectadas con cada uno de los vectores mediante PCR y Western blot, respectivamente. En este trabajo se obtuvieron los vectores recombinantes MVA-RG, Ad-RG y pCI-RG. La inmunogenicidad y eficacia de estos vectores se evaluará solos o combinados en el modelo murino mediante ensayos de seroneutralización y prueba de NIH.





.....
SESSÃO DE PÔSTER I

POSTER SESSION I

SESIÓN POSTER I

A IMPORTÂNCIA DA FILOGEOGRAFIA PARA O ESTUDO DO VÍRUS DA RAIVA ISOLADO DE MORCEGOS INSETÍVOROS EM DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

Grisolio APR¹, Oliveira RN², Picinato MAC¹, Vieira LFP³, Achkar SM², Pereira PMC², Carvalho AAB¹

¹ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP;

² Instituto Pasteur – São Paulo/SP;

³ Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo – IDAF, Vitória/ES

Correspondente: Ana Paula Rodomilli Grisolio

E-mail: anapaula_lta@yahoo.com.br

Embora a raiva esteja controlada nos centros urbanos, especialmente a canina, a doença se mantém endêmica em várias regiões do Brasil. O avanço nos estudos epidemiológicos baseados na análise molecular do vírus da raiva, nas últimas décadas, permitiu a identificação de reservatórios e a distribuição geográfica de suas variantes. Os morcegos assumem importância como reservatórios e, segundo dados do Ministério da Saúde, representam cerca de 12% dos casos de transmissão do vírus e desenvolvimento da raiva humana no Brasil. Desde 1998, no Estado de São Paulo, o vírus isolado de cães e gatos tem sido identificado como pertencente principalmente à linhagem *Desmodus rotundus*, específica desta espécie de morcego hematófago ou raramente à linhagens de morcegos insetívoros, e não à linhagem canina, o que alerta para a importância dos quirópteros na transmissão da raiva. Dessa forma, faz-se necessário o estímulo para novas pesquisas, especialmente sobre o comportamento do vírus em morcegos, em particular os insetívoros, importantes reservatórios naturais, especialmente nas Américas e cada vez mais presentes no ambiente urbano, convivendo próximos aos seres humanos e seus animais de estimação. A filogeografia surge, neste contexto, como uma modalidade que vem se mostrando eficaz para o estudo da raiva em diferentes áreas terrestres e para auxiliar em atividades de controle e prevenção da doença. Essa metodologia utiliza sequências de DNA de diferentes isolados de uma

mesma linhagem viral obtidos de diferentes locais em um determinado período de tempo, com o objetivo de inferir a distribuição e o deslocamento desta linhagem no tempo e espaço refletindo o deslocamento e interações de seus reservatórios na natureza ao longo do tempo. Trabalhos que envolvam a filogenia e a filogeografia contribuem para a compreensão da epidemiologia molecular da raiva e para o seu controle. Um estudo filogeográfico está sendo realizado com amostras de vírus da raiva isolados de morcegos insetívoros *Nyctinomops laticaudatus*, recebidos pelo Instituto Pasteur/SP e provenientes de municípios dos Estados de SP, CE, MG, RN, MS e PR, Brasil, na expectativa de conhecer o perfil de deslocamento geográfico da linhagem *Nyctinomops* Brasil e inferir o tempo decorrido nesse deslocamento e, com isso, auxiliar as medidas de controle e prevenção da raiva no território brasileiro. Para a pesquisa, o uso do gene da nucleoproteína N facilita a identificação das variantes do vírus, pois se trata de uma região altamente conservada permitindo a formação dos agrupamentos o que, futuramente, pode possibilitar a comparação com outras variantes e a identificação de suas origens. Ressalta-se que estudos dessa natureza são escassos no Brasil e necessários para auxiliar no controle efetivo e na prevenção da raiva, fornecendo informações importantes sobre os riscos contidos na interação de morcegos no ambiente urbano.

Agradecimentos: Instituto Pasteur. Apoio financeiro: FAPESP.



ACCIDENTES POR MORDEDURA CANINA EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL “CENTRO DE SALUD CONTROL ZONOSIS DE LIMA” DURANTE EL PERIODO 2010-2016

Ornela Chávez Inagaki, Yris Carpio Bazán, Sergio Recuenco Cabrera, Néstor Falcón Pérez

Corresponsal: Ornela Chávez Inagaki

E-mail: ornela.chavez@upch.pe

En el Perú, la rabia persiste en focos limitados localizados en el ámbito rural como urbano. Lima Metropolitana ha tenido su última gran epizootia de rabia canina en 1982, cuando concentró el 56% de casos humanos y el 44% de casos en canes de la incidencia nacional. Posteriormente, ocurrieron brotes aislados de rabia en el departamento de Lima con pocos casos entre los años 1998 al 2006. Si bien en Lima se ha eliminado la rabia canina desde entonces, existe el peligro latente de reintroducción de rabia urbana tal como ocurrió recientemente en la Región Arequipa. El Centro de Control de Zoonosis de Lima, es el establecimiento de salud de referencia para el manejo de exposiciones a rabia para las provincias de Lima y Callao. Los accidentes por mordedura canina continúan siendo un problema de salud pública atendiéndose alrededor de tres mil accidentes de mordedura cada año en Lima. El incremento de la población canina junto con la falta de tenencia responsable de las mascotas, incrementa el riesgo de la población a contraer enfermedades zoonóticas. Se caracteriza clínica y epidemiológicamente los accidentes por mordedura canina en pacientes atendidos en el Centro de Control de Zoonosis de Lima durante el periodo 2010-2016, incluyendo las variables de edad, sexo, procedencia, tiempo de exposición, circunstancias del accidente, tipo de lesión, atención brindada, historia vacunal, administración de profilaxis antirrábica humana, e información del animal mordedor; enfatizando el cumplimiento de los esquemas de profilaxis post-exposición. Los resultados obtenidos pueden contribuir al mejoramiento de los programas de prevención, control y vigilancia epidemiológica de la rabia, así como el óptimo manejo de mordeduras, y promoción de la tenencia responsable de mascotas.

AÇÕES INTEGRADAS DE CONTROLE DA RAIVA NO ESTADO DO CEARÁ, NOS ÚLTIMOS 10 ANOS

Marta Maria Caetano de Souza Iva Maria Lima Araujo Melo Josafa Nascimento Cavalcante Filho Avatar Martins Loureiro Osvaldo David de Alencar Lara Lima Araujo Melo Marcio Henrique Oliveira Garcia

Correspondente: Marta Maria Caetano de Souza

E-mail: marta_mcsouza@hotmail.com

INTRODUÇÃO: A raiva, doença que acomete o Sistema Nervoso Central (SNC), é causada por RNA vírus, do gênero Lyssavirus, que acomete diversos mamíferos incluindo o homem. Trata-se de uma doença de extrema importância por sua alta letalidade e que gera alto custo na assistência preventiva às pessoas com risco de adoecimento e morte, além do impacto econômico em animais de produção. No Brasil a doença é endêmica, com a atuação dos morcegos na cadeia de transmissão. Na América Latina, morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* são os principais hospedeiros do vírus no ciclo aéreo, sendo os principais transmissores da infecção aos herbívoros. O programa Nacional de controle da Raiva no Brasil preconiza a integração de ações visando a interrupção da cadeia de transmissão da doença. **OBJETIVO:** Descrever ações e estratégias preconizados pelos programas de controle da raiva visando a eliminação da raiva animal e humana. **METODOLOGIA:** Foram analisados: Programa Nacional e Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH e PECRH), Programa Nacional de Controle da Raiva no Brasil (PNCR), Normas Técnicas de Profilaxia da Raiva Humana (NTPRH) /Ministério da Saúde (MS). **RESULTADOS:** A Coordenação de Controle da Raiva dos Herbívoros é responsável pelo PNCRH. A Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI) é o órgão responsável pelas atividades do PECRH, que preconiza dentre outras ações: profilaxia de pré-exposição dos profissionais que com atividade de risco para raiva e a capacitação continuada dos profissionais de saúde, tendo como principais estratégias: ações de vigilância epidemiológica, com atendimento às suspeitas de raiva, vacinação dos herbívoros, educação

sanitária, notificação das suspeitas à ADAGRI e controle populacional do morcego *Desmodus rotundus*. O Programa Nacional de Controle da Raiva Canina segue o manual de NTPRH, recomendando vacinação de no mínimo 80% da população canina, recolhimento de animais errantes e a posse responsável. O Ceará, nos últimos anos, ultrapassou a cobertura mínima preconizada. O PNCR preconiza a profilaxia de pós-exposição em tempo oportuno, profilaxia de pré-exposição para profissionais em atividade de risco, bem como as ações de educação em saúde. **CONCLUSÃO:** Diversas estratégias são adotadas para a profilaxia e controle da raiva animal com ações integradas para o controle em herbívoros e morcegos. Os Programas Nacional e Estadual de Controle da Raiva no Brasil envolvem ações com interfaces para o controle da raiva silvestre, no âmbito do ciclo aéreo e terrestre, ciclo urbano, profilaxia e tratamento humano e notificação de casos da doença com integração aos sistemas de informação. No entanto, percebe-se que ainda são necessárias medidas mais cautelosas e eficazes para o controle da raiva animal, principalmente ações de vigilância constante, bem como é de fundamental importância a integração entre a assistência e as vigilâncias epidemiológica e ambiental para o controle da raiva.



ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DOS POSTOS DA CAMPANHA DE VACINAÇÃO CONTRA RAIVA ANIMAL DA REGIÃO DE ERMELINO MATARAZZO, SÃO PAULO/SP, NO ANO DE 2013

²Alves AJS, ³Donola CBC, ²Kuroda RBS, ⁴Cortez TL.

¹- Médica Veterinária, Estudante de Mestrado do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal / FMVZ/USP

²- Docente. Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses, Centro Universitário Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo

³- Analista em Saúde/ Biólogo- Prefeitura do Município de São Paulo/SMS/CRSLeste/ Supervisão de Vigilância em Saúde de Ermelino Matarazzo

⁴- Analista em Saúde/ Médica Veterinária - Prefeitura do Município de São Paulo/SMS/COVISA

Correspondente: Vanessa Cristinne V. Rabaquim

E-mail: vanessacristinne@hotmail.com

A raiva é uma das zoonoses que afeta a humanidade há mais de 2 mil anos, sendo considerada um problema de saúde pública, o que levou em 1968 na Cidade de São Paulo a implantação da vacinação em massa de cães e gatos contra raiva animal. Este trabalho tem como objetivo georreferenciar e avaliar os postos volantes da Campanha de Vacinação Contra a Raiva Animal realizado pela Supervisão de Vigilância em Saúde (SUVIS) de Ermelino Matarazzo no ano de 2013. Os dados obtidos foram coletados a partir da Campanha Anual de Vacinação Contra a Raiva em Cães e Gatos de 2013, para elaboração dos mapas temáticos utilizou-se o banco de dados de domicílios de 2010 do IBGE e o software livre ArcGis®. A campanha de vacinação contra a raiva animal em 2013 na região da SUVIS de Ermelino Matarazzo imunizou 21.929 animais, sendo 17.165 cães e 4.592 gatos. As áreas de abrangência teóricas e ajustadas dos postos tem uma grande sobreposição. Diante dos dados obtidos no trabalho, conclui-se que os postos do distrito de Ermelino Matarazzo estão melhor distribuídos que os postos do Distrito de Ponte Rasa. Sugere-se uma necessidade de revisão de alocação dos postos de vacinação da SUVIS de Ermelino Matarazzo.



ANÁLISE DAS NOTIFICAÇÕES DE ATENDIMENTO ANTIRRÁBICO HUMANO NO ESTADO DE GOIÁS NO PERÍODO DE 2013 A 2016

Júnior WM¹, Jesus AK¹, Sousa FA¹, Araújo IFL¹, Rego JG¹, Marques SFF¹

¹ Secretaria de Estado da Saúde de Goiás/SUVISA/GVE/ZOONOSES

Correspondente: Wanderley Mendes Júnior

E-mail: wandmjr@msn.com

O objetivo deste estudo foi conhecer o perfil do atendimento antirrábico humano no Estado de Goiás. O estudo é do tipo descritivo, transversal, realizado através do banco de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), alimentado pelas fichas de investigação de atendimento antirrábico humano da Gerência de Vigilância Epidemiológica da Secretaria da Saúde do Estado de Goiás. Os dados são referentes a 100% dos casos notificados nos anos de 2013 e 2015. Nesse período houveram 92.053 notificações de atendimento antirrábico humano, consideraram-se variáveis os campos de informações das fichas de investigação e calcularam-se as frequências relativas e absolutas. Observou-se que o sexo masculino foi o mais acometido por acidentes 52,54% (48.373), a espécie animal envolvida no maior número de agressões foi a canina 83,84% (77.184), que era em sua maioria observável 85,91% (66.316), que ao momento da agressão estava clinicamente na condição sã 82,09% (63.362), causando ferimentos únicos 59,24% (37.537), profundos 47,96% (18.003), por mordedura 87,98% (33.026), nas mãos/pés 37,45% (14.059). O esquema profilático mais indicado foi a vacinação associada a observação do animal 67,94% (62.545) e registrou-se 42,04% (26.298) abandonos. Destes pacientes 1,78% (1.115) apresentou reação adversa a vacina. O soro antirrábico mais indicado foi o soro heterólogo 2,68% (2.468), para 5.214 pacientes (5,66%) dos quais 271 (0,29%) receberam infiltração total e 773 (0,83%) receberam infiltração parcial. Apresentaram reação adversa ao soro 39 pacientes (0,04%). A análise das fichas de notificação no período estudado revelou grande quantidade de campos em branco ou preenchidos

como informação ignorada. Existe grande quantidade de incompletudes nos registros de atendimento antirrábico humano no sistema de informação do estado de Goiás, embora se evidenciou uma progressiva melhora nestes registros no período avaliado. Somente o treinamento e a conscientização dos profissionais de saúde poderão proporcionar fidelidade nas informações dos atendimentos antirrábicos.

Palavras-Chave: raiva; vigilância epidemiológica; notificação.

Apoio Financeiro: Secretaria de Estado da Saúde de Goiás.



ANÁLISE DESCRITIVA DA OPORTUNIDADE DA VIGILÂNCIA DA RAIVA EM SÃO JOÃO DA BOA VISTA, SP, BRASIL

Pinto FAROT¹, Martins CM¹, Vieira AMP², Hoffmann RC³, Ferreira F¹, Palhares AMS^{3 1}. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil; ². Instituto Pasteur, São Paulo, SP, Brasil; ³. Centro de Controle de Zoonoses, Prefeitura Municipal de São João da Boa Vista, SP, Brasil

Correspondente: Felipe Alex Relvas de Oliveira Tavares Pinto

E-mail: alvieira@saude.sp.gov.br

A sistematização e a padronização dos registros clínico-epidemiológicos dos animais enviados para diagnóstico laboratorial são importantes para o controle e para a estruturação da vigilância de qualquer doença. Uma etapa importante na avaliação da qualidade da vigilância é o tempo entre a coleta e envio das amostras pelo serviço municipal e a chegada do resultado do laboratório. Este tempo é chamado de oportunidade. O objetivo deste estudo foi caracterizar de forma descritiva a oportunidade da vigilância da raiva no município de São João da Boa Vista, São Paulo, Brasil. Os dados foram obtidos dos registros municipais e do sistema de informação do laboratório do Instituto Pasteur entre 2015 e 2016, vindos de animais atropelados, agressores, clínicas veterinárias e, no caso dos quirópteros, de chamados de munícipes para retirada de animais em horários não habituais. A análise foi realizada extraindo média, mediana e desvio-padrão das diferenças do tempo em todas as amostras e por espécie entre a coleta das amostras, chegada ao laboratório, liberação do resultado e chegada deste na prefeitura. A média do tempo de todas as amostras entre a coleta e a chegada da amostra ao laboratório foi de 4,27 dias (mediana = 2,00, desvio-padrão = 4,82); por espécie, a média dos quirópteros foi de 5,96 dias, dos caninos 2,84 e dos felinos 3,90 dias. A diferença entre a chegada da amostra e a liberação do resultado foi, em média, para todas as amostras 6,59 dias (mediana = 0 e desvio-padrão 16,38), por espécie foi, para caninos

1,64, para felinos 0,97 e para quirópteros 11,45 dias. E a diferença entre a liberação do resultado e a chegada na prefeitura foi para todas as amostras, em média, 40,57 dias (mediana = 35,00 desvio-padrão = 24,40); por espécie, os quirópteros apresentaram a maior média nesta última etapa, com média de 60,52 dias, 38,88 para os cães e 28,72 dias para os felinos. Os dados indicam que o alto tempo da oportunidade do consiste na dificuldade do resultado obtido pelo laboratório ser recebido pelo serviço do município. Considerando que, a partir do recebimento do resultado, o município inicia ações de controle, o tempo avaliado deve ser o menor possível, revelando um problema logístico considerável para a qualidade da vigilância neste indicador.



ANÁLISE DO TRATAMENTO INDICADO NOS ACIDENTES POR MORCEGO NOS MUNICÍPIOS DA 10ª REGIÃO DE SAÚDE DE LIMOEIRO DO NORTE/CE, DE 2013 A 2015

RODRIGUES VC¹, CHAVES CS¹, LIMA MFC², LIMA FMG², DANTAS IA², SOUSA HN¹.

¹ 10ª Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, Secretária de Saúde do Estado do Ceará,

² Enfermeira, Secretaria Municipal de Saúde de Jaguaribara/CE

Correspondente: Vanuza C Rodrigues

E-mail: vanusacosme@gmail.com

A raiva humana é uma enfermidade infecciosa viral aguda, passível de ser controlada, mediante a ação de instrumentos de vigilância, controle e prevenção, tanto em relação ao homem como ao animal transmissor. Ocorre com a penetração do vírus contido na saliva do animal infectado, principalmente pela mordedura e, mais raramente, pela arranhadura e lambadura de mucosas. O morcego é um dos animais silvestres que pode transmitir a raiva humana, pois pode albergar o vírus rábico na saliva e ser infectante antes de adoecer, por períodos maiores que os de outras espécies. Assim, toda agressão por morcego deve ser classificada como grave e, segundo esquema para profilaxia da raiva humana com vacina de cultivo celular, as agressões por morcego devem ser indicadas soro-vacinação independentemente da gravidade da lesão. Portanto, objetiva-se analisar o tratamento indicado nos acidentes por morcego nos municípios da 10ª Região de Saúde de Limoeiro do Norte/CE, de 2013 a 2015. Foi feita uma análise das Fichas de Notificação de Acidente Anti-rábico no banco de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação-SINAN. As variáveis selecionadas foram: tipo de animal agressor (morcego) e tratamento indicado (soro + vacina), no período de 2013 a 2015. Os acidentes aconteceram nos municípios que compõe a 10ª Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, Foi demonstrado que no ano de 2013, foi indicado tratamento com soro e vacina para 70% dos acidentes por morcego, em 2014 somente 20% e em 2015, 77,77% dos pacientes foram

tratados adequadamente. Outros tratamentos indicados foram: observação + vacina e somente vacina. Entende-se a responsabilidade dos profissionais quanto à conduta quando se indica um tratamento para paciente agredido por morcego, uma vez que essa indicação vai prevenir o desenvolvimento da raiva humana, pois acidente por morcego deve ser prescrito e administrado soro e vacina, independentemente da gravidade da lesão. Nessa região é preocupante essa realidade, tendo em vista a detecção do vírus da raiva nesse animal está presente. Já foram realizadas capacitações para profissionais de todos os municípios, enfocando a epidemiologia da doença da raiva em animais e humanos, bem como detalhamento da nota técnica em vigor no país. Percebe-se que existe uma fragilidade na aplicação do Protocolo Ministerial quanto ao tratamento de acidente anti-rábico por morcego nessa Região de Saúde. Mas sabe-se que as informações sobre raiva humana são divulgadas através da mídia, cartazes, banner, aplicativos móveis, livros, entre outros. Recomenda-se continuar com a estratégia da educação em saúde para a população quanto à prevenção dos acidentes; vacinar cães e gatos conforme orientação ministerial; além de permanecer realizando capacitações para profissionais de saúde, bem como envolver a gestão municipal, estadual e federal nesse processo de responsabilidade frente ao tratamento de acidente por morcego.



ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DOS ATENDIMENTOS ANTIRRÁBICOS NO MUNICÍPIO DE MARACANAÚ, CEARÁ, BRASIL

Cavalcante KKS¹, Duarte NFH^{1 3}, Chaves CS³, Feitosa MCR², Pinheiro ABF², Silva, FTV², Alencar CH¹

¹ Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

² Secretaria Municipal de Saúde, Maracanaú, CE, Brasil

³ Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

Correspondente: Cristianne Soares Chaves

E-mail: cristiane.chaves@saude.ce.gov.br

A raiva é uma antroponozoonose transmitida ao homem pela inoculação do vírus presente na saliva e secreções do animal infectado, principalmente pela mordedura. Apresenta letalidade de aproximadamente 100% e alto custo na assistência preventiva às pessoas expostas ao risco de adoecer e morrer. Apesar de ser conhecida desde a antiguidade, continua sendo um problema de saúde pública. As espécies canina e felina são as principais transmissoras da raiva aos homens, no mundo, e responsáveis pela maioria dos atendimentos, além de provocar traumas físicos e psicológicos nas vítimas. No Brasil, os agravos com cães representam 85 a 95% e com gatos cerca 7 a 10%. Tais agravos muitas das vezes exigem tratamento com vacina de cultivo celular e/ou soro antirrábico, consumindo recursos financeiros que poderiam ser utilizados em programas de prevenção e promoção da saúde voltados para a população. Trata-se de um estudo de caráter descritivo por meio da coleta de dados relacionados aos atendimentos antirrábicos humanos, no período de janeiro a dezembro de 2015, no Município de Maracanaú, Ceará. Para esse estudo foram analisadas quantitativamente as fichas de atendimento antirrábico humano do Sistema de Notificação de Agravos de Notificação (SINAN), obtidas junto ao Núcleo de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Maracanaú. Como critério de inclusão foram considerados todos os tipos de agravos que determinassem risco de exposição ao vírus rábico, provocada por

qualquer espécie animal. Utilizou-se como critério de exclusão as notificações cujas pessoas não são residentes em Maracanaú. No período analisado, foram notificados no SINAN 1.051 atendimentos antirrábicos. Destes, 889 foram tratadas, sendo 807 somente com vacina e 81 com soro e vacina. O tipo de agressão mais frequente foi a mordedura (84%) e a principal espécie agressora foi a canina, com 729 agressões (69%), seguida da felina (30%). A cada dia, em nosso meio, frente à situação epidemiológica, há necessidade de existir a notificação de agressões animais, aliada ao atendimento para a profilaxia da raiva humana. Esses agravos requerem padronização de conduta e sistematização de procedimentos, não necessitando na maioria das vezes de profilaxia contra a raiva humana em pós-exposição. Em Maracanaú, no ano de 2015, dos 1.051 animais agressores, 759 eram cães e gatos passíveis de observação. Este dado corrobora a importância de se trabalhar a educação em saúde junto à população e reduz a quantidade de doses vacinais aplicadas nas pessoas agredidas. Destaca-se a importância de se trabalhar junto à população maracanauense ferramentas educativas no intuito de melhorar o acesso às informações sobre a guarda responsável e o comportamento animal, de tal forma que os acidentes provocados por animais sejam evitados e, conseqüentemente, reduzidos os gastos públicos com tratamentos antirrábicos.

Palavras-chave: Atendimentos antirrábicos; Raiva; Vigilância epidemiológica.



ANALYSIS OF BAT ATTACKS IN A VULNERABLE HUMAN POPULATION IN EASTERN AMAZON, PARÁ, BRAZIL BETWEEN 2013 AND 2015

Silva NPS^{1,2*}, Saraiva EA¹, Silva MB¹, Nascimento KKG¹, Guimarães RCS, Nahum KCP¹, Corôa RSB¹, Abel¹. *Autor para correspondência

¹ Laboratório de Epidemiologia e Geoprocessamento (EpiGeo), Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará,

² Coordenação de Vigilância em Saúde de São João da Ponta

Corresponding: Nailde de Paula Silva

E-mail: naildevet@hotmail.com

Wild rabies became a worldwide concern in the last decade, and bats now play an important role in the transmission of the disease in Latin America. This study characterized hematophagous bat attacks to humans in the municipality of São João da Ponta, state of Pará, Brazil, from 2013 to 2015. All victims (n = 5), recorded in the SINAN/SESPA database, answered a questionnaire about the attacks circumstances. A significant number (n = 61) did not look for healthcare at the time, but were found by non-probabilistic snowball sampling. In total, 66 people were attacked during the period, most of whom were adult (69.6%) men (92.4%) living in rural areas (92.4%) who made a living from crab fishing (80.3%) and had taken primary school (86.3%). The mangrove in Mãe Grande de Curuçá extractivist reserve was considered to pose greater risk of bat attacks by 92.4% of respondents. It is used by fishers to catch crabs, when they sleep in makeshift shelters with no walls and covered with canvas or straw (88.8%) for several days. Most attacks left one single injury (71.2%) on a lower limb (93.9%). Also, 42.4% reported having been bitten over four times during the period (range 1-18 bites). Importantly, 86.4% did not look for medical assistance, while 95.4% knew nothing of rabies. These results show that the number of victims in the region is higher when compared with the cases reported in health units, since for each attack notified in SINAN, 13.2 cases are not notified. Poor compliance with notification procedures is due to

the little awareness of the risks involved, making it difficult to assess the rabies problem quantitatively and hindering the adoption of prevention measures. Strategies based on rabies prophylaxis should be planned and implemented for this population, in which the problem is occupational character.

Acknowledgements: The authors thank the municipal administration of São João da Ponta, Pará, of Curuçá, Pará as well as São João da Ponta and Mãe Grande de Curuçá extractivist reserves and the Federal University of Pará.



APENAS UMA PERGUNTA: COMO UMA SIMPLES INDAGAÇÃO INFLUENCIOU A TAXA DE VACINAÇÃO CONTRA RAIVA NA REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DE RONDÔNIA

Silva RL¹, Ward FSN¹

¹ Agência de Defesa Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia

Correspondente: Rafael Luis Silva

E-mail: rafaeluismat@gmail.com

No Brasil, a raiva tem gerado prejuízos incalculáveis à pecuária. Sua importância é mundial, tanto pelas perdas econômicas, como por tratar-se de uma zoonose de grande relevância na saúde pública. A partir dessa problemática, desenvolveu-se um estudo com dados cedidos pela Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia – IDARON, referente ao município de Presidente Médici, estado de Rondônia, Brasil, levando-se em consideração a quantificação da população bovina e do número de animais vacinados contra raiva, com o objetivo de mensurar o grau de crescimento de animais vacinados, após uma simples pergunta. Para tanto, como uma das formas de incentivo à vacinação contra essa enfermidade no estado de Rondônia, foi incorporada nas campanhas contra febre aftosa, a partir do ano de 2014, uma simples pergunta: “vacinou contra raiva?”. Esse estudo, trata-se de um estudo observacional, retrospectivo, com enfoque na quantificação dos registros. O estudo teve como base os anos de 2010 a 2015, neste município. Para esse levantamento buscou-se informações no banco de dados do Software da IDARON e de posse dessas, usando uma metodologia de cunho quantitativo, descritivo e documental, os dados foram analisados. Demonstrou-se que, a partir de 2014, data de incorporação da medida, o nível de animais vacinados cresceu de forma abrupta, certa de 144% em relação ao ano anterior e consequentemente no ano de 2015 houve outro crescimento, de 34,16%, ao passo que o crescimento médio anual populacional dos bovinos foi 3,16%. O mero questionamento sobre a vacinação do rebanho contra raiva durante as

campanhas contra febre aftosa deu margem à conversação com os produtores rurais sobre a necessidade de proteger seu rebanho através da vacinação, mesmo essa não sendo obrigatória na região. Ao serem inqueridos pelos funcionários, os produtores perguntavam se era obrigatório e qual a necessidade deles em vacinar, momento em que foram instruídos pelos atendentes da importância da vacinação, dos prejuízos e agravos da doença, do risco à saúde humana, sobre a notificação de animais doentes, ataques de morcegos entre outras informações que surgiam durante essa conversa, após essa “simples pergunta”. Importante mostrar a eficácia de uma simples medida interferindo de maneira positiva e crucial na taxa de vacinação de uma região e espera-se que até o ano de 2017 seja vacinado um quarto da população total de bovinos na cidade de Presidente Médici, o que será um aumento da cobertura vacinal significativa comparada a que existia anteriormente.

Palavras-chave: Vacinação. Raiva. Eficácia.



ASSOCIAÇÃO ENTRE SINTOMATOLOGIA, RESPOSTA IMUNE HUMORAL E DISTRIBUIÇÃO DO VÍRUS DA RAIVA EM ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Karin Corrêa Scheffer¹, Pereira PMC¹, Fahl WO¹, Mori E¹, Silva ACR¹, Chaves LB¹, Caporale GMM¹, Asano KM¹, Iamamoto K¹, Centoamore NHF¹, Fernandes MES¹, Scheffer KC^{1*}

¹ Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

*Autor correspondente

Correspondente: Karin Corrêa Scheffer

E-mail: karin.scheffer@gmail.com

Avanços científicos direcionados às pesquisas com o vírus da raiva tem colaborado cada vez mais para o conhecimento de informações sobre sua patogenia. Este trabalho teve como objetivo analisar a associação entre sintomatologia, resposta imune humoral e distribuição do vírus em camundongos inoculados com a variante III do vírus da raiva por via periférica. Foram utilizados camundongos da linhagem Balb/c, com 21 dias de idade, e três grupos, com 12 indivíduos, foram constituídos: controle negativo (inoculados com solução salina tamponada), controle positivo (inoculados com CVS/31) e o grupo de estudo inoculados com suspensão feita com amostra de bovino caracterizada antigenicamente como variante III (AgV 3). A inoculação foi realizada via coxim plantar com 0,03mL da suspensão. O sangue dos animais foi coletado a cada três dias por punção intracardíaca após anestesia profunda a partir do dia 0 até o 24º dia e com o soro obtido foi realizado o microteste simplificado de inibição de fluorescência (SFIMT) para a quantificação dos anticorpos neutralizantes (AcN). Glândulas salivares e sistema nervoso central (SNC) dos animais do grupo inoculado com AgV 3 também foram coletados, devidamente preparados e submetidos à RT-PCR quantitativa (RT-qPCR) para o gene N. Os animais do grupo controle negativo não apresentaram sintomatologia nem título de AcN. No controle positivo, os animais apresentaram sintomatologia característica de infecção pelo vírus da raiva, porém não foi constatada

presença de AcN. Do grupo dos animais inoculados com amostra AgV 3, os soros dos animais coletados no 18º, 19º e 20º dias apresentaram títulos de AcN maiores que 0,30 UI/mL. Destes, apenas um animal sacrificado no 18º dia apresentou sintomatologia, enquanto que os indivíduos do 19º e 20º dias foram assintomáticos, nos quais possivelmente os vírus não atingiram o SNC no período em que foram sacrificados, entretanto, o organismo conseguiu responder com a produção de AcN. A RT-qPCR detectou a presença de RNA viral nos cérebros dos indivíduos do 7º dia, porém, não apresentaram sintomatologia provavelmente por apresentar estágio inicial de replicação do vírus no SNC. Os cérebros coletados no 16º e 18º dias também foram positivos na RT-qPCR e os animais apresentaram sintomatologia características. Nas amostras de glândulas salivares coletadas no 16º e 18º dias os resultados foram positivos e os animais apresentaram sintomas. Os dados preliminares sugerem a associação entre o início da distribuição viral com o aparecimento dos AcN no soro desses animais, contudo, mais estudos são necessários para determinarmos a relação desses fatores, bem como suas variáveis.

Palavras-Chave: Raiva, Soroneutralização, Resposta Imune, RT-qPCR

Suporte Financeiro: Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil.



ATAQUE DE MORCEGOS HEMATÓFAGOS A COMUNIDADE DE PONTE DO GRAVATÁ, ARAÇUAÍ/MG, 2013

Santana LF¹, Vieira APA², Brito MG¹, Ferraz ML¹

¹ Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil.

² Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

Correspondente: Ludmila Ferraz de Santana

E-mail: ludmilafsantana@gmail.com

Introdução: Minas Gerais tem apresentado casos de raiva em morcegos dispersos por todo o Estado. O último caso humano da doença ocorreu no ano de 2012 por transmissão através de morcego hematófago na zona da mata mineira. No ano de 2013 houve denúncia de ataque a seres humanos por quirópteros, na localidade de Ponte do Gravatá, Araçuaí/MG, prontamente investigada em virtude do risco de ocorrência de raiva humana na região. Relato: No dia 25/02/2013, a Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais (SES/MG) foi notificada pela Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais (SEAPA/MG) sobre um ataque de morcegos a seres humanos em uma zona rural do município de Araçuaí/MG. Tratava-se da localidade de Ponte do Gravatá, distante 10 km da sede do município, com moradias sem proteção adequada, situadas próximas a matas florestais e com baixos indicadores socioeconômicos. Para determinação da extensão da área de risco, na localidade de Ponte do Gravatá, adotou-se o raio de 12 km, considerando como potencial fonte de infecção a espécie quiróptera, para o desenvolvimento das ações. Realizou-se investigação epidemiológica do evento por meio de entrevistas, avaliação da profilaxia antirrábica humana dos agredidos, reuniões informativas com profissionais de saúde para esclarecimento de condutas específicas e estabelecimento de parcerias interinstitucionais. Foram contabilizadas, durante a investigação, 20 notificações de pacientes agredidos, que realizaram profilaxia pós-exposição. Promoveram-se ações de esclarecimento à população através de palestras ministradas por profissionais de saúde, divulgação em rádio e

televisão e visitas domiciliares. Durante a abordagem, informou-se sobre o ciclo de transmissão da doença, gravidade e conhecimento sobre o risco. A SEAPA/MG trabalhou 05 abrigos na região, capturando 38 morcegos hematófagos. Discussão: Considerou-se de extrema importância a ampla divulgação da procura por atendimento médico em caso de agressão por mamíferos suspeitos de raiva pelos residentes na comunidade de Ponte do Gravatá. Verificou-se que diante da carente realidade que cercava a referida comunidade, tornou-se indispensável intensificar a busca ativa de abrigos de morcegos hematófagos na região pela SEAPA/MG, além da manutenção da vigilância das agressões. Dessa forma, esperou-se contribuir para a minimização do risco de infecção pelo vírus rábico na comunidade afetada.



AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO HUMANA AO VÍRUS RÁBICO PELO CONTATO COM MORCEGOS, PARANÁ, 2009-2014

Laurindo EE⁽²⁾, Barros Filho IR⁽¹⁾, Brandão APD⁽³⁾, Gruber JGPF⁽¹⁾.

¹ - Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - Campus Curitiba

² - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) - Serviço de Saúde Animal (SSA-PR) - Curitiba

³ - Universidade de São Paulo (USP) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental aplicada às Zoonoses

Correspondente: Ellen Elizabeth Laurindo

E-mail: ellen.laurindo@agricultura.gov.br

Anualmente, 55.000 pessoas morrem no mundo devido à raiva. O ciclo urbano desta enfermidade está controlado No Brasil, porém ela ainda é considerada endêmica em algumas regiões do país e o ciclo aéreo da doença vem se mostrando cada vez mais presente nos ambientes rurais e urbanos. O risco de transmissão da raiva por quirópteros é elevado, independentemente da gravidade do ferimento e espécie. Devido a isso, foi realizada uma avaliação da exposição humana ao vírus rábico pelo contato com quirópteros no Paraná, na região sul do Brasil, na qual foram analisados os dados de 443 quirópteros capturados pela vigilância ativa e passiva no estado pela Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (Adapar) e enviados ao Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti (CDME) entre janeiro de 2009 a dezembro de 2014 e 2.602 morcegos encaminhados ao Laboratório Central do Paraná (Lacen/PR), entre julho de 2009 a dezembro de 2014. Do total de 3.045 quirópteros, 2.242 (73,6%) foram oriundos de áreas urbanas, 722 (23,7%) de áreas rurais e 81 (2,7%) de áreas não identificadas. Os quirópteros foram capturados em 278/399 municípios do Paraná. A região de maior ocorrência de captura foi Foz do Iguaçu com 641 indivíduos (23,9%). Houve 899 contatos entre pessoas e morcegos, mais frequentes em áreas urbanas, sendo que 80 dos morcegos eram raivosos. A média do contato pessoas-morcegos foi de 150 indivíduos por ano.

O perfil de maior exposição foi: gênero masculino, entre 20-35 anos e o local do corpo mais exposto foram mãos e pés (60,4%). Observou-se que a quantidade total de exemplares capturados no Paraná aumentou 310% com o passar dos anos, assim como a quantidade de indivíduos positivos aumentou 266%. Isto é preocupante para a saúde pública, pois 3,5% (107/3028) dos morcegos tiveram diagnóstico positivo para a raiva. É importante que ações educativas com o foco preventivo sejam realizadas em todos os municípios do Paraná, visando prevenir ocorrência de casos em seres humanos e animais domésticos.



AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO DA POPULAÇÃO SOBRE A PERCEPÇÃO DE RISCO PARA A RAIVA, ESTUDO DE CASO REALIZADO NO BAIRRO CPA I, MUNICÍPIO DE CUIABÁ, MATO GROSSO, BRASIL, PERÍODO DE 2009 A 2013

Reis VGL, Romero AC

Correspondente: Valdir Gonçalo Leite dos Reis

E-mail: leitereis@gmail.com

A raiva é uma antropozoonose, transmitida ao homem pela inoculação do vírus presente na saliva e secreções do animal infectado, pela mordedura e lambedura, caracterizada por uma encefalite progressiva e aguda que apresenta letalidade de aproximadamente 100% (BRASIL, 2014). Estudos tem demonstrado que há circulação de vírus rábico em morcegos não hematófagos, presentes no ambiente urbano, devido a oferta de abrigos e alimentos (UIEDA, 1995). Atualmente a sociedade se distingue por criar riscos, muitos dos quais afetam de maneira desigual a população (ALEIXO et al., 2011). Nestes termos, este estudo objetivou avaliar o conhecimento da população sobre a percepção de risco para a raiva, no bairro CPA I, município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil, período de 2009 a 2013. A metodologia aplicada foi a de questionários, abordando informações sobre demografia, população animal, posse responsável e conhecimentos sobre a raiva, totalizando 204 amostragens. Dos entrevistados, 57,4% (117/204) criam cães, preferencialmente fêmeas e 17,7% (36/204) criam gatos. Fato relevante, pois a procriação excessiva, e a não conscientização da posse responsável contribui para a existência de animais não domiciliados ou errantes, gerando problemas de saúde pública. Quanto aos morcegos serem transmissores do vírus rábico para humanos, 50% (102/204) dos entrevistados responderam que sim, 27,5% (56/204) não e 22,5% (46/204) desconhecem esta situação de risco. A população tem conhecimento que a raiva é uma doença letal e que em casos de contato com animais, devem buscar o sistema de saúde para tratamento profilático e

também são receptivos quanto a vacinação antirrábica animal. A proximidade do bairro amostrado, com uma área de preservação ambiental “Parque Estadual Massairo Okamura”, merece atenção, devido a presença de animais silvestres, passíveis de contato com as pessoas. Segundo FELTES BAGNOLI, (1999), a educação em saúde, é importante para a disseminação do conhecimento quanto aos riscos da raiva e as formas de evita-lo. Estudos desta natureza são importantes para o conhecimento, assim como também configura um modelo de instrumento estratégico na prevenção de riscos auxiliando nas ações de Vigilância em Saúde.

Palavras-chave: Raiva, Vigilância, Reservatório, Prevenção e Controle.

Agradecimentos A Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso – SES/MT, em especial a Superintendência de Vigilância em Saúde, Técnicos da Coordenadoria de Vigilância em Saúde Ambiental, pelo apoio para a realização deste estudo. A amiga Noraney Nascimento Almeida, pelo incentivo na busca do aprendizado.



AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DE CÃES E GATOS RECONTACTANTES DE MORCEGOS COMO METÓDO ALTERNATIVO A REVACINAÇÃO CONTRA RAIVA

Nitsche A ⁽¹⁾, Tomass TLB ⁽¹⁾, Rodrigues RCA ⁽¹⁾, Silva KR ⁽²⁾, Rodrigues AC ⁽²⁾, Scheffer KC ⁽²⁾, Silva SR ⁽²⁾, Fernandes ER ⁽²⁾, Katz ISS ⁽²⁾, Guedes F ⁽²⁾, Silva ACR ⁽²⁾, Chaves LB ⁽²⁾

¹ Unidade de Vigilância de Zoonoses, Secretaria Municipal de Saúde, Campinas, SP.

² Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

Correspondente: Tosca de Lucca Benini Tomass Rezende

E-mail: tosca_delucca@yahoo.com.br

No município de Campinas, aproximadamente 450 morcegos são recolhidos anualmente pelo serviço da Unidade de Vigilância de Zoonoses (UVZ) na área urbana. Desses, 2,0 % são diagnosticados com raiva. Durante o atendimento da solicitação de recolhimento de morcego pela equipe da UVZ, é investigada a possibilidade de contato de algum cão ou gato com o morcego. Nos animais contactantes com histórico vacinal contra a raiva, são administradas duas doses de vacina nos dias 0 e 30. Nos animais nunca vacinados, são administradas três doses de vacina da raiva nos dias 0, 7 e 30, segundo as recomendações da norma técnica NT19/2012–CGDT/DEVEP/SVS/MS. Para critérios de indicação da avaliação sorológica, a UVZ define como animal recontactante, o cão e gato submetido a protocolo vacinal recomendado pela NT19/2012 em um período igual ou menor a 01 ano e novamente exposto a um morcego durante esse intervalo. A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) considera que cães e gatos com títulos igual ou superior a 0,5 UI/mL estão protegidos ao risco de infecção pelo vírus da raiva. No período de 01 de janeiro de 2015 a 30 de junho de 2016, a UVZ recolheu 937 morcegos. Neste período, 424 cães e 305 gatos foram identificados como contactantes. Dentre esses animais, 17 cães e 26 gatos categorizados como recontactantes tiveram sangue coletado para a titulação de anticorpos neutralizantes de vírus da raiva. Com exceção de um felino, todos os animais testados apresentaram títulos iguais ou superiores a 0,5 UI/mL e, desta forma, não necessitaram de

doses adicionais de vacina. Destaca-se que o felino com titulação inferior a 0,5 UI/mL foi submetido ao protocolo de vacinação por volta dos 2 meses de idade, ou seja, antes da idade mínima indicada para a vacinação. O animal posteriormente recebeu uma dose de reforço da vacina antirrábica e, após nova coleta, atingiu título satisfatório. A avaliação sorológica de animais recontactantes tem se mostrado uma ferramenta importante para a verificação do status imunológico de animais com exposição frequente a morcegos, além da redução de custos com doses de vacina desnecessárias e da promoção do bem-estar animal ao prevenir prejuízos ao organismo animal em decorrência da vacinação em excesso.



CAMPANHAS ANTIRRÁBICAS NO BRASIL E SUA IMPORTÂNCIA PARA O CONTROLE DA RAIVA CANINA PELA VARIANTE 01 E 02

Silene Manrique Rocha¹, Vargas A¹, Castro APB¹, Caldas EP¹, Montebello LR¹.

¹ Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde do Brasil (MS).

Correspondente: Silene Manrique Rocha

E-mail: silene_rocha@hotmail.com

A raiva é uma doença fatal de maior importância epidemiológica, apresenta alta letalidade, porém, passível de eliminação no ciclo urbano. No Brasil, as campanhas antirrábicas caninas anuais são uma das ações de vigilância da raiva que preconiza a formação de uma barreira imunológica capaz de interromper a transmissão da raiva na população canina. A eficácia depende de um planejamento adequado por meio de estimativas caninas apropriadas e coberturas acima 80% da população canina estimada. Este estudo pretende mostrar a importância das coberturas vacinais caninas e a redução dos casos de raiva em cães e humanos causados por caninos domésticos com variante rábica 1 ou 2 no Brasil, 1999 a 2009. O estudo descritivo observou as frequências de coberturas vacinais das campanhas antirrábicas caninas anuais. Os dados informados pelas Secretarias de Saúde ao Programa Nacional da Raiva (PNR), por meio de planilhas padronizadas. As variáveis avaliadas foram: Casos humanos e caninos positivos para raiva e coberturas vacinais, por Município, Unidades Federadas (UF) e Região Político Administrativa, utilizaram os softwares Excel, Tabwin. No período estudado foram registrados 189 casos de raiva humana 52,9% foi causada por cães a maior proporção de raiva humana ocorreu no Nordeste com 61% dos casos, na região Sul que não houve registros no período. Os casos caninos foram 4.446 registros: 41,5% no Nordeste, 33,8% no Centro Oeste, 20,4% no Norte e as regiões Sudeste e Sul apresentaram os menores registros 3,8% e 0,5% respectivamente. Observou-se redução de 98% registros de raiva em cães, a maior frequência foi de 1231 e a menor foi de 21 registros. Nas campanhas vacinais a média

foi de 86,5% da frequência na cobertura vacinal canina observada. A região Norte atingiu média de 84,7%. Nas UFs de Rondônia e Acre observou-se variação de 52 a 131%. Amazonas e Amapá apresentaram as menores médias no período 77,3% e 72,2% respectivamente. No Nordeste a média da frequência coberturas vacinais foi de 85%. No Maranhão a média foi de 80,2% variando de 69 a 99% no período. Na região Centro Oeste a média foi de 85,4% dos caninos estimados. As regiões Sul e Sudeste a média de frequência da cobertura vacinal foi de 89,1% e 88,2% simultaneamente. O Estado do Paraná é o único Estado da Região Sul que realizou campanhas maciças nas áreas de fronteira, consideradas de risco. Estudos mostram que coberturas vacinais acima de 70% evitaria a ocorrência de uma epidemia de raiva. Este estudo foi observado que metas de 60% associadas a outras ações de vigilância como bloqueio de foco, diminuíram casos de raiva em cães e humanos. As coberturas vacinais caninas contribuíram para reduzir casos de raiva em cães e em humanos, embora apresentem taxas satisfatórias é preocupante a heterogeneidade destes resultados. A eliminação de casos de raiva em humanos e o controle da raiva em caninos são desafios a ser alcançados.

Palavras-chave: epidemiologia e vigilância da raiva, campanha antirrábica.



CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E ANTIGÊNICA DE LINHAGENS DO VÍRUS DA RAIVA (RABV) ISOLADAS DE DIFERENTES RESERVATÓRIOS BRASILEIROS

Pereira PMC, Castilho JG, Achkar SM, Macedo CI, Carnieli Jr P, Batista HBCR, Souza DN, Iamamoto K, Fahl WO, Oliveira RN.

Correspondente: Rafael de Novaes Oliveira

E-mail: rafaeldenovaes@yahoo.com.br

A raiva é uma zoonose que afeta o sistema nervoso central, de evolução aguda e fatal, mantida em mamíferos e conhecida há milênios. Presente na América, Europa, África e Ásia, tem como agente etiológico um vírus RNA neurotrópico, pertencente à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae, gênero Lyssavirus. Embora o RABV tenha a capacidade de infectar todos os mamíferos, observa-se que poucos destes hospedeiros atuam como reservatório do vírus da natureza, os quais pertencem principalmente às ordens Carnivora e Chiroptera, sendo a principal exceção a esta regra a ordem Primatas, representada pelo sagui-de-tufos-brancos *Callithrix jacchus*, o qual é reservatório de uma linhagem específica no nordeste brasileiro. Mundialmente, são admitidos dois grandes ciclos de transmissão para a raiva, o ciclo urbano, onde o cão atua como reservatório e fonte de infecção para outros cães, animais domésticos e o homem, e o ciclo silvestre, representado por vários ciclos epidemiológicos independentes mantidos por diferentes mamíferos silvestres e quirópteros. Com o controle do ciclo urbano da raiva nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, a vigilância e profilaxia da raiva nestas regiões estão estritamente relacionadas ao conhecimento do ciclo silvestre do RABV, buscando estabelecer quantos ciclos epidemiológicos o compõem, as linhagens de RABV de cada ciclo e seus prováveis reservatórios. No Brasil, estudos demonstram a existência de pelo menos 15 linhagens de RABV mantidas em ciclos epidemiológicos independentes, sendo 14 delas pertencentes ao ciclo silvestre. Entre estas, apenas as linhagem *D. rotundus* é passível de ser tipificada antigenicamente através do painel de 8 anticorpos monoclonais cedido pelo CDC e amplamente

utilizado na América Latina para esta finalidade, uma vez que algumas linhagens partilham de um mesmo perfil antigênico e outras apresentam perfis não compatíveis aos contemplados nesta técnica. Isto torna o sequenciamento genético o único meio disponível confiável para a classificação das linhagens de RABV mantidas por diferentes reservatórios no Brasil. Com o objetivo de dar continuidade ao aprimoramento da caracterização genética dos RABV contemplados nos ciclos epidemiológicos da raiva existentes no Brasil, bem como tentar relacionar perfis antigênicos de RABV a linhagens genéticas este trabalho apresenta dados parciais relativos ao sequenciamento de DNA do gene N completo de 113 isolados de RABV provenientes de diferentes hospedeiros brasileiros. Como resultados preliminares foram corroborados os achados de outras pesquisas relativos à caracterização de algumas das linhagens de RABV já conhecidas, foram encontrados representantes de linhagens pouco frequentes no estoque de sequências genéticas do Instituto Pasteur, bem como caracterizadas 2 linhagens ainda desconhecidas na literatura e bancos de dados de sequências genéticas, demonstrando a importância e adequação desta investigação em relação a vigilância epidemiológica da raiva no Brasil.



CONTROLE DA POPULAÇÃO DE MORCEGOS HEMATÓFAGOS NO ESTADO DO PIAUÍ, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2012 A JULHO DE 2016

Barreto FM ⁽¹⁾, Rosa WLGA ⁽¹⁾, Moura, JIA ⁽¹⁾, Oliveira EHS ⁽²⁾, Barreto LM ⁽³⁾, Pereira, KVL ⁽⁴⁾, Barbosa, BA ⁽⁴⁾, Teixeira, FAFC ⁽⁴⁾.

1. Agência de Defesa Agropecuária do Piauí – ADAPI, Teresina-PI
2. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento MAPA-PI, Teresina-PI
3. Faculdade Estácio de Teresina, Teresina-PI
4. Faculdade Maurício de Nassau/Aliança, Teresina-PI

Correspondente: Flávia Barreto

E-mail: flaviamelobarreto@yahoo.com.br

A raiva é considerada uma das zoonoses de maior importância em saúde pública. O ciclo silvestre é mantido principalmente por morcegos hematófagos (MH), principais transmissores da doença aos bovinos, outros mamíferos silvestres e ocasionalmente ao homem. O controle das populações desses morcegos é uma das medidas incluídas no Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros, eliminando os indivíduos ou colônias de MH por meio do uso de substâncias anticoagulantes. No mundo existem três espécies de MH, *Desmodus rotundus*, *Diaemus youngi* e *Diphilla ecaudata*. O serviço de Defesa Agropecuária no Piauí é realizado pela Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Piauí – ADAPI. O presente estudo objetivou fazer o levantamento de MH capturados e tratados, e amostras de MH levadas ao laboratório, no período de janeiro de 2012 a julho de 2016, no estado do Piauí. Para a captura, utilizou-se redes de neblina armadas em volta das fontes de alimento e abrigos de MH. Encaminhou-se cerca de 10% dos MH capturados ao Laboratório de Patologia Animal da ADAPI para análise da circulação viral. Utilizou-se as técnicas de imunofluorescência direta (IFD) e inoculação intracerebral em camundongos (ICC). O restante, foi aplicado pasta tópica à base de warfarina no dorso e foram soltos, para o controle da população. Analisou-se os dados dos relatórios, e verificou-se que no ano de 2012 foram capturados 709 MH, tratados 635 e enviados ao laboratório 74. Trabalhados em 199 propriedades

de 24 municípios. Em 2013, 444 MH capturados, 394 tratados e 50 enviados ao laboratório, trabalhados em 129 propriedades de 15 municípios. Em 2014, 393 MH capturados, 369 tratados e 24 enviados ao laboratório, trabalhados em 99 propriedades de 13 municípios. Em 2015, 249 MH capturados, 228 tratados, 21 enviados ao laboratório, 48 propriedades trabalhadas em 06 municípios. Até julho de 2016, foram capturados 187 MH, 170 tratados, 17 enviados ao laboratório, 69 propriedades trabalhadas em 10 municípios. Observou-se que houve uma diminuição gradativa na quantidade de municípios trabalhados, de propriedades atendidas e de animais capturados. Talvez essa queda se justifique pela falta de recursos para custear as despesas com a equipe de captura. As amostras encaminhadas ao laboratório foram 100% negativas para a raiva, mas não se pode dizer que não existe o vírus circulando, pois o método de captura utilizado, direciona a amostragem para morcegos sadios, ou seja os que estão aptos a voarem de encontro às redes. As capturas aconteceram em municípios onde os técnicos das unidades locais fizeram solicitações, de acordo com as notificações de proprietários aos escritórios da ADAPI, distribuídos por todo o estado. Concluiu-se que há presença de morcegos hematófagos em todas as regiões do Estado e, o controle destes, no Estado do Piauí ainda é realizado de forma parcial.

Palavras-Chave: Raiva, morcegos hematófagos, controle populacional.



DIRETRIZES PARA O PLANEJAMENTO E GERENCIAMENTO ESTRATÉGICO DO CONTROLE DA SITUAÇÃO ENDÊMICA DE MORCEGOS URBANOS

Romijn PC¹, Rouge LMS¹, Kimura LMS¹, Valle SCP²

¹- PESAGRO-RIO, RJ, Brasil;

²- UFF;

²- INMETRO, RJ, Brasil

Correspondente: Phyllis Catharina ROMIJN

E-mail: phyllisromijn@gmail.com

Todas as cidades atualmente têm morcegos e apresenta ambientes propícios de abrigo para morcegos. A conotação geral é de que morcegos são prejudiciais à saúde humana por transmitirem agentes infecciosos que podem levar a zoonoses. O controle da Raiva em cães e gatos está devidamente enfocada na conscientização da posse responsável, vacinação e prevenção do contato. Recursos humanos permeiam todo o processo. Neste quadro não está incluído o morcego, apesar do encontro com morcegos acontecer com maior frequência que evidenciado pelas notificações oficiais. Havendo um planejamento estratégico, associado a um ambiente informatizado para o registro de casos de infecção por vírus da Raiva e mapeamento de abrigos potenciais, poderá ser instituída sua gestão e monitoramento. Esta gestão de registros, posteriormente sendo estendidos para o ambiente rural, permitirão a prevenção de casos de Raiva em animais inclusive de interesse econômico. Há diretrizes disponíveis que permitem apoiar o planejamento e gerenciamento estratégico do controle da situação endêmica de morcegos urbanos, pois, diferente de outros grupos de animais sinantrópicos, morcegos não devem ser enquadrados como nocivos, e nem são passíveis de eliminação sem consequências graves. Além de mitigar situações de risco apresentadas e resolver incidentes pontuais, deve se direcionar ações com foco na implantação/manutenção de um sistema de informações, que permita que técnicos e gestores em saúde tenham o controle da situação e possam agir preventivamente. Sugere-se a construção de políticas públicas

que expressem, o interesse em assegurar o direito pleno a saúde, dentro de um “Princípio da Precaução”, ou seja, não produzir intervenções no meio ambiente antes de ter a certeza de que não serão prejudiciais à saúde humana e ao ambiente, respeitando e interferindo minimamente com equilíbrios já estabelecidos e com isto ir de encontro ao bem-estar ambiental sustentável. As ações devem ser intersetoriais, de articulações políticas, de quaisquer iniciativas. O diagnóstico da situação tem destaque no registro de ocorrências, de ações consequentes, e, principalmente, dos erros e oportunidades como lições aprendidas. No caso específico de morcegos o importante é estar no controle da situação e criar condições para a gestão sustentável, e usar métodos não destrutivos para aliviar os conflitos entre as pessoas e morcegos. O que é necessário é a criação de instrumentos de gestão que permitam a manutenção de registros e a ampliação dos mecanismos técnicos, gerenciais, jurídicos e administrativos bem-sucedidos em geral (PNS – 2012-2015 (2011) que garantam a sustentabilidade do processo do ponto de vista ambiental, urbanístico e social, e consolidando procedimentos que assegurem o cumprimento e melhoria da legislação. Desta forma o controle populacional, realizado por pessoal competente autorizado, só acontecerá esporadicamente, quando existir o risco real de transmissão de agentes infecciosos.

Apoio: FAPERJ.



EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF RABIES VIRUS ISOLATED FROM CANIDS IN NORTH AND NORTHEAST BRAZIL

Souza DN¹, Carnieli PJr¹, Macedo CI¹, Oliveira RN¹, Batista, HBCR¹, Rodrigues AC¹, Pereira PMC¹, Achkar SM¹, Vieira LFP², Castilho JG¹.

¹ Pasteur Institute.

² Institute of Agricultural and Forest Defense of Espírito Santo

Corresponding: Débora Nunes de Souza

E-mail: juliana.castilho@uol.com.br

Cases of canine rabies continue to occur in North and Northeast Brazil, and the number of notifications in wild canids has increased as a result of the expansion of urban areas at the expense of areas with native vegetation. In light of this, the present study sought to perform molecular characterization of rabies virus isolated from dog and *Cercopithecus* thous from various states in North and Northeast Brazil. In all, 102 samples from dog (n=56) and *Cercopithecus* thous (n=46) collected between 2006 and 2012 were used. The nucleotide sequences obtained for the N gene of rabies virus were analyzed and phylogenetic analysis revealed the presence of two distinct genetic lineages (one associated with canids and one with bats) and, within the canid cluster, two distinct sublineages circulating among dog and *Cercopithecus* thous. In addition, phylogenetic groups associated with geographic region and fourteen cases of interspecific infection were observed among the isolates from canids. Our findings show that analysis of rabies virus lineages isolated from reservoirs, such as canids must be constantly evaluated for the mutation rate is high.

Keywords: rabies, dog, *Cercopithecus* thous, epidemiology molecular.

Financial support: Instituto Pasteur.



ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DA PREVENÇÃO E CONTROLE DA RAIVA NO MUNICÍPIO DE MARACANAÚ, CEARÁ

Cavalcante KKS, Duarte NFH, Feitosa MCR, Pinheiro ABF, Silva, FTV, Romijn PC, Valle SCP, Alencar CH

Corresponding: Phyllis Catharina ROMIJN

E-mail: phyllisromijn@gmail.com

O atendimento pós-exposição para a prevenção da Raiva mais frequente é baseado na profilaxia quando houver risco de exposição ao vírus. Devem ser analisados tipo, local, extensão e profundidade da lesão; tipo de animal agressor; tempo de observação do animal; e adequação dos esquemas propostos. A grande dificuldade encontrada pelo setor de vigilância em saúde no município de Maracanaú, Ceará, no tocante aos atendimentos a humanos sob risco, é a despadronização na prescrição do esquema para profilaxia da Raiva com vacina de cultivo celular pelos profissionais de saúde. Esta despadronização evidencia um baixo nível de qualidade operacional. O esquema pós-exposição não segue as exigências do Ministério da Saúde, e o preenchimento da ficha de notificação é incompleto. Falhas em registros são evidências de um sistema de gestão inconsistente. Este projeto objetivou avaliar estratégias, inclusive à distancia, para a melhoria do Programa de Vigilância, Controle e Profilaxia da Raiva por ações de educação permanente para profissionais de saúde e da população do Município de Maracanaú. Estratégias para melhoria na prescrição da profilaxia da Raiva humana foram adotadas pelo município, como capacitação técnica de 16 h em setembro de 2015 para médicos, enfermeiros, agentes comunitários de saúde e agentes de combate às endemias, pela exposição dialogada e estudos de casos e utilizando-se metodologia ativa de ensino-aprendizagem. O planejamento estratégico setorial amplia a eficácia da abordagem. Concomitantemente, realizou-se esclarecimento à população de Maracanaú sobre seu papel na prevenção, controle e profilaxia da Raiva, além das responsabilidades dos proprietários para com seus animais

de estimação, por cartilhas educativas e palestras em escolas municipais. Ao longo de 2015 foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 1.051 atendimentos anti-Raiva. Destes, 889 foram efetivamente realizados, sendo 807 somente com vacina e 81 com soro e vacina. Dos 1.051 animais agressores, 759 eram cães e gatos passíveis de observação. Este dado corrobora a importância de se trabalhar a educação em saúde junto à população através da Posse Responsável, o que pode reduzir a quantidade de doses de vacina aplicadas nas pessoas agredidas. Como resultados, percebe-se que, embora permaneça uma elevada quantidade de atendimentos pós-exposição (2014 – 1.043; 2015 – 1.051; janeiro a junho de 2016 – 283), já se observa melhor preenchimento da ficha específica do Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Acredita-se que, através de ações continuadas de educação permanente, os profissionais de saúde do município conduzirão melhor o atendimento a pessoas potencialmente sob risco, o fluxo de controle epidemiológico da Raiva será facilitado, a população será devidamente esclarecida quanto à relevância da posse responsável dos seus animais de estimação, e orientada em como proceder nos casos de agressões animais.

Financiamento: SMS Maracanaú/Ce.



ESTUDO DESCRITIVO DOS ACIDENTES CAUSADOS POR ANIMAIS COM POTENCIAL DE TRANSMITIR RAIVA. BRASIL, 2009 A 2013

Alexander Vargas^{1,2}, Nóbrega AA^{1,2}, Castro APB², Caldas EP², Montebello LR², Nunes M L^{1,2}, Rocha SM²

¹ Programa de Treinamento em Epidemiologia Aplicada aos Serviços do SUS (Episus), Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde (MS);

² Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde do Brasil(MS)

Correspondente: Silene Manrique Rocha

E-mail: silene_rocha@hotmail.com

Introdução: A Raiva é uma zoonose viral, aguda, de letalidade 100% e o esquema de profilaxia pós-exposição antirrábica é um dos componentes da prevenção da raiva humana. Objetivo: Fazer um estudo descritivo da profilaxia pós-exposição antirrábica humana, causadas por animais com potencial risco de transmitir raiva no Brasil no período de 2009 a 2013. Método. Estudo descritivo dos registros no Sinan para profilaxia pós-exposição antirrábica humana, no Brasil, de 2009 a 2013. Foram analisadas, variáveis sociodemográficas e específicas do banco (tipo de exposição ao vírus rábico, localização e tipo de ferimento, espécie de animal agressor, profilaxia indicada, houve interrupção da profilaxia, motivo da interrupção, se houve abandono da profilaxia e se a unidade procurou o paciente). Para a análise, foram utilizadas frequências simples e relativas. Os softwares utilizados foram: TabWin 32, Terraview 3.3.2 e Microsoft Excel 2010. Resultados: Foram registrados 2.959.356 notificações de profilaxias pós-exposição antirrábica humana, apresentando uma média de 591.871 ao ano. A região Sudeste registrou maior número com 1.189.261 (40,2%), o estado que mais notificou foi São Paulo, 585.735 (19,8%). A faixa etária de 5 a 9 anos foi a mais acometida, com 391.001 (14,3%). O sexo masculino foi predominante, com 1.596.722 (54,0%). A exposição por mordedura foi a maior responsável, com 2.543.818 (86,0%) e a espécie animal agressora mais frequente foi a canina com 2.450.132 (83,6%). Quanto à profilaxia, houve uma predominância da observação e vacinação, com 1.436.895 (51,0%). Do

total de registros, a interrupção da profilaxia ocorreu em 353.554 (12,0%). Destes, o motivo de interrupção mais observado foi o abandono da profilaxia, com 251.201(71,0%), e 5.434 (2,2%) relacionados a espécies animais do ciclo silvestre, consideradas como exposições graves, dos quais 1.941 (0,8%) não foram procurados pela unidade de saúde. Conclusão: A profilaxia mais indicada foi a observação e vacinação como forma preventiva à raiva, assim, sugere-se a realização de análises na conduta clínica da profilaxia antirrábica, uma vez que a prescrição desnecessária de vacinação antirrábica, além de expor o indivíduo a uma profilaxia que poderia ser totalmente dispensável, também, causa desperdícios de recursos públicos. O fortalecimento das ações de atenção básica, focadas no acompanhamento da profilaxia antirrábica, poderá contribuir na diminuição do número de abandonos, principalmente no que tange as exposições mais graves, assim como, avaliação das indicações de profilaxia.

Palavras-Chave: raiva, atendimento antirrábico humano, profilaxia antirrábica.



ESTUDO DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DO ATENDIMENTO ANTIRRÁBICO E SEU IMPACTO NA SAÚDE PÚBLICA NO ESTADO DO CEARÁ, NO PERÍODO DE 2007 A 2016

Melo IMLA, Souza MMC, Filho JNC, Melo LLA, Duarte NFH, Garcia MHO.

Correspondente: Marta Maria C. de Souza

E-mail: martamaria.souza@saude.ce.gov.br

INTRODUÇÃO: A raiva, moléstia viral que acomete o sistema nervoso central, é causada por um Lyssavirus, cuja transmissão ocorre por mordedura, lambedura e/ou arranhadura. A raiva é relevante por ser um agravo fatal em quase 100% dos casos e continua como importante problema de saúde pública, sendo responsável por no mínimo 55.000 casos/ano no mundo. No Brasil, na última década as regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste registaram 12 casos, 9 no Nordeste e 4 no Ceará. Os casos de raiva humana no Ceará tiveram como espécies agressoras o sagui (3 casos) e cão (1 caso), alertando para a importância da raiva silvestre no ciclo de transmissão da doença.

OBJETIVO: Descrever o perfil epidemiológico dos atendimentos antirrâbicos e o impacto na saúde pública nos últimos 10 anos. **METODOLOGIA:** estudo descritivo utilizando o Sistema de Informação de Agravos de Notificação de 2007 a 2016. As variáveis foram: número de atendimentos antirrâbicos, sexo, faixa etária, zona de residência, tipo de exposição, localização e tipo de ferimento, espécie agressora e tratamento indicado. **RESULTADOS:** o número de atendimentos antirrâbicos teve média de 24.707 casos, com total de 247.074 no período. O sexo masculino registrou 53,4 % e o feminino de 46,6%. Quanto à faixa etária observou-se os seguintes percentuais: 22,58%-1 a 9 anos, 16,31%-10 à 19 anos, 24,56 %- 20 à 39 anos, 21,10%- 40 à 59 anos e 15,45%- 60 anos e mais. Em relação à zona de residência a urbana registrou 64,8%, a rural 26,58% e a periurbana 0,89%. Observou-se que a mordedura teve maior percentual (85,0%) seguida de arranhadura (15,5%).

Mãos e pés foram os locais mais atingidos (37,7%), depois os membros inferiores (34,58%). A espécie canina registrou maior percentual dentre as agressões (69,9%), seguida da felina (23,8%), primata (1,4%), herbívoro (0,74%), raposa (0,61%), morcego (0,49%) e outras (3,73%). O tratamento que teve maior percentual foi observação + vacina (47,7%), somente vacina (28,4%), soro+vacina (11,2%) e observação do animal (6,3%). **CONCLUSÃO:** Os atendimentos antirrábicos aumentaram no período avaliado, sendo as agressões por cães e gatos as que concentraram maior percentual. Adultos jovens apresentaram maior número nos atendimentos, provavelmente em decorrência de maior exposição. A observação do animal e uso da vacina foi a conduta mais indicada, ressaltando a importância da vigilância ao animal agressor. Embora tenha-se verificado maior percentual de atendimentos nas agressões por cães e gatos, 3 casos de raiva humana no estado tiveram o sagui como espécie agressora, reforçando que a vacinação de cães e gatos, bem como, outras ações de prevenção são importantes no controle da raiva. No entanto, são necessárias ações de vigilância constante envolvendo também o ciclo silvestre e rural, uma vez que o estado do Ceará mantém a circulação viral em herbívoros e animais silvestres com casos de raiva animal em 2014, 2015 e 2016, alertando para o risco de transmissão da raiva.



ESTUDO MOLECULAR DO VÍRUS DA RAIVA EM BOVINOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

Santos GR¹, Kobayashi Y², Itou T²; Souza A³, Brandespim DF⁴, Carvalho AAB³

¹ Doutora na área de Medicina Veterinária Preventiva, Garanhuns/PE

² Nihon University Veterinary Research Center, Kanagawa, Japan

³ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP, Brasil
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife/PE

Correspondente: Adolorata Carvalho

E-mail: adolorata89@hotmail.com

A raiva é uma antropozoonose de evolução letal causada por vírus do gênero *Lyssavirus*. A doença em bovinos é endêmica em todas as regiões do Brasil, causando sérios prejuízos econômicos. Diversos estudos moleculares foram realizados com amostras de vírus rábico originárias de diferentes regiões do país, no intuito de auxiliar na compreensão da epidemiologia da doença. As técnicas utilizadas possibilitaram caracterizar geneticamente o vírus da raiva, distinguindo estirpes dentro de regiões geográficas e permitindo o cruzamento entre dados da variante viral, do hospedeiro e da área geográfica. O presente trabalho objetivou determinar o perfil epidemiológico da raiva em herbívoros no Estado de Pernambuco, no período de 2007 a 2012. Para complementar o estudo, análises moleculares foram efetuadas a partir de 16 amostras de bovinos provenientes das mesorregiões Mata, Agreste e Sertão do Estado. As amostras, cedidas pelo Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de Recife, foram submetidas à técnica de RT-PCR para amplificação parcial do gene N, e em seguida à análise filogenética. As sequências obtidas neste estudo, com 820pb em média, apresentaram identidade de 99% com sequências do vírus da raiva depositadas no Genbank. Pela análise filogenética, observou-se que todas as amostras foram homólogas às sequências de vírus da raiva relacionado à linhagem do morcego hematófago *Desmodus rotundus*, confirmando sua importância na manutenção da raiva no ambiente rural, visto que esta espécie é

considerada a principal transmissora do vírus da raiva aos herbívoros. Pesquisas apontam que no Brasil circulam variantes de vírus da raiva pertencentes a pelo menos dois grupos de genótipos diferentes, e esses dois grupos são mantidos de forma independente entre cães e morcegos hematófagos; e ainda, que a raiva transmitida pelo morcego hematófago apresenta aspectos epidemiológicos que estão associados às características geográficas e topográficas das áreas ocupadas pelo rebanho e aos fatores que influenciam a ecologia dessa espécie de morcego. As mesorregiões Mata, Agreste e Sertão possuem características que favorecem os habitats dos morcegos hematófagos e propiciam a manutenção da enfermidade no ambiente. Na árvore filogenética, as amostras provenientes da região da Mata estão agrupadas separadamente das amostras de Sertão e Agreste, as quais compõem um agrupamento específico, sugerindo que haja ciclos de transmissão independentes. Diante dos resultados obtidos, constata-se que o vírus da raiva está presente em todas as regiões do Estado de Pernambuco, o que o caracteriza como área endêmica que necessita de ações contínuas da Vigilância Agropecuária para prevenção e controle da enfermidade.

Agradecimentos: CAPES; LANAGRO Recife/MAPA; College of Bioresources Sciences - Nihon University, Japão.



EVALUATION OF HUMAN ANTI-RABIES CALL NOTIFICATION IN PERIOD 2000-2015 IN THE STATE OF PARÁ BRAZIL

Silva NWF¹, Andrade JAA¹, Lima RJS¹, Begot AL¹, Abreu EMN¹, Esteves FAL¹, Brito RMO¹, Baptista ZMF¹

¹- State Department of Health of Pará - SESPA, Belém-Pará-Brazil

Corresponding: Neuder Wesley França da Silva

E-mail: nwvet@hotmail.com

The human anti-rabies attendance is notifiable grievance higher occurrence in the State of Pará. In an evaluation in the Notifiable Diseases Information System - SINAN, from 2000 to 2015, there is 1,049,519 notifications, 454,302 grievance of care records (32.89% x⁻ annual 30,287), followed by Dengue with 271,103 occurrences (19.63% x⁻ annual 18,074), Cervical Discharge Syndrome in Women 140,084 (10.14% x⁻ annual 9,339), Venomous Bites of Animals 98,959 (7.16% x⁻ annual 6,597), Leprosy 85,071 (6.16% x⁻ annual 5,671) and other health problems 331 865 (24.02%; x⁻ annual 22,124). In the same period, the canines represent the aggressor species most frequently with 78.84% (358,151) of records, followed by feline 10.72% (48,689), bats 5.16% (23,448), non-human primates 1.79 % (8154), fox 0.04% (192), other species 2.02% (9197) and ignored/white 1.42% (6,471). Although bats occupy the third position in frequency of attacks, was the species responsible for most cases of human rabies in the state with 40 deaths from 2004 to 2005 covering the municipalities of Portel, Augusto Correa and Viseu, this after 6 deaths in Juruti in 1975; considered the first record of human rabies caused by vampire bats in Brazil and not included in the SINAN databases, since the system was only introduced in the 90s in order to collect and process data from reporting grievances in throughout the country. However, as a result of updates to Programming Systems between SINAN DOS, SINAN W and SINAN NET, only from 2000 can analyze databases continuously and without data loss. In these records observed that the frequency of interruption of any type of human anti-rabies treatment indicated was 20.38% (92,609), not interrupted

46.59% (211,667) and ignored/white 33.02% (150,026), while abandonment represented 16.94% (76,970) of the reason for interruption of treatment, the Health Unit indicated 3.02% (13,729) Transfer 0.42% (1,914) and ignored/white 79.61% (361,689). Of treatment interruptions Health Unit searched for the patients only 5.35% (24,306) of the absentees, did not seek to 8.08% (36,715) and ignored / White 86.57% (393,281). Despite the anti-rabies care be higher registration grievance in the state, it is considered that there is a significant lack of notifications regarding attacks by bats due to large anthropic dispersion by areas of difficult access resulting from Amazonian dimensions of Para. The SINAN data point to the need to adopt strategies such as continuous monitoring, periodic and proper care anti-rabies chips at the level of county and state, supervisions aiming at greater activity in relation to the active search for missing patients to treatment; reducing the proportion of abandonment and minimize the frequency of notifications ignored and/or white, which interfere with the real statistical analysis of anti-rabies attendance.



GOBERNANZA EN EL ÁREA ANDINA PARA LA ELIMINACIÓN DE LA RABIA HUMANA TRANSMITIDA POR PERROS Y CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA RABIA TRANSMITIDA POR EL MURCIELAGO HEMATOFAGO (DESMODUS ROTUNDUS)

1-Vigilato MAN ²-Sánchez Otero LF³-Beingolea More LF, ⁴-Paredes G, ⁵-Pavletic C, ⁶-Díaz Gómez A, ⁷-Saad Acosta C, ⁸-Castro A, ⁹-Suárez Ruiz A, ¹⁰-Cabanillas Angulo O, ¹¹-Talavera M, ¹²-Rivas Peña MY, ¹³-Chavez Inagaki O, ¹⁴-Arosquipa C

¹- Asesor de Salud Pública Veterinaria, PANAFTOSA – Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) , ,

²- Coordinador Regional de Salud, Organización del Tratado de Cooperación Amazónica (OTCA)

³- Coordinador de la Red Andina de Vigilancia Epidemiológica, Organismo Andino de Salud (ORAS-CONHU)

⁴- Responsable Nacional de Zoonosis y Ofidios, Ministerio Salud de Bolivia

⁵- Jefe de la Oficina de Zoonosis y Vectores, Ministerio de Salud de Chile

⁶- Coordinador del Grupo de Desarrollo y Salud. Ministerio de Salud de Colombia

⁷- Referente de Vigilancia Integrada de Rabia Humana, Instituto Nacional de Salud de Colombia

⁸- Consultora de Zoonosis, Ministerio de Salud de Colombia

⁹- Dirección Nacional de Estrategias Prevención y Control, Ministerio de Salud de Ecuador

¹⁰- Coordinador Nacional Estrategia Sanitaria de Zoonosis, Ministerio de Salud del Perú

¹¹- Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis, DIGESA, Ministerio de Salud del Perú

¹²- Responsable del Equipo Nacional de Zoonosis – MPPS, Ministerio de Salud de Venezuela

¹³- Universidad Peruana Cayetano Heredia / Centro Antirrábico de Lima, Perú

¹⁴- Asesor de Cooperación Técnica para Suramérica - Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS)

Corresponsal: Marco Antonio Nata Vigilato

E-mail: vigilato@paho.org

Con el propósito de desarrollar modelo de intervención contra la Rabia, para generar influencias políticas de soporte, que contribuyan implementar acciones en Salud Pública en los países Andinos, y el objetivo de definir acciones para vigilancia, control y eliminación de la rabia transmitida por perros y por murciélagos hematófagos, coordinado con en el Plan de Acción Regional para las Américas, aprobado en la REDIPRA 14 (Perú 2013) y REDIPRA 15 (Brasil 2015), se aprobó la resolución 497 “Eliminación de la Rabia transmitida por perros y control de la rabia transmitida por especies silvestres” en la XXXV Reunión de Ministros de Salud del Área Andina (REMSAA), en Cochabamba,

Bolivia en 2015. En seguimiento, se reunieron los delegados de los Ministerios de Salud Andinos en Arica, Chile, preparando los lineamientos del Plan Andino, entregue a los Ministerios de Salud para aprobación. Se espera en cinco años fortalecer el acceso oportuno, disponibilidad y calidad de agentes inmunobiológicos para las personas expuestas riesgo de rabia, mantener la cobertura de vacunación antirrábica adecuada de los perros en las zonas de riesgo; fortalecer los planes de acción nacionales para el control de la rabia, fortalecer el sistema de vigilancia epidemiológica de la rabia humana transmitida por perro y animales silvestres; apoyar el diagnóstico oportuno; realizar entrenamiento y la formulación de un sistema de control de calidad con particular énfasis en áreas de riesgo; implementar un mecanismo de información, educación y comunicación sobre el riesgo de la Rabia; implementar acciones para un mecanismo de prevención y colaboración entre países que permita el apoyo efectivo en el desarrollo de los programas y campañas de vacunación en países o áreas endémicas de la región y implementar acciones preventivas frente a la rabia humana transmitida por murciélagos hematófagos. En abril de 2016 en Arica, Chile se convocó delegados de los Ministerios de Salud de Bolivia, Chile y Perú, con el objetivo de preparar un plan transfronterizo de inmunizaciones de perros, donde fue presentada la situación epidemiológica de la rabia y se reafirmaron acuerdos y compromisos para la eliminación de la rabia. En abril del 2016, se reunieron las autoridades sanitarias del orden territorial, regional y nacional de Colombia, para presentar la situación de rabia con la necesidad de realizar un trabajo concertado y articulado entre los sectores de ambiente, agricultura y salud, para establecer lineamientos de cooperación en la frontera con Venezuela. Los países Andinos siguen en constante labor y coordinación para la implementación del Plan, entre los socios estratégicos están los Ministerios de Salud, de Agricultura, de Medio Ambiente e Institutos asociados de los Países Andinos; autoridades de todos los niveles y organismos internacionales como PANAFTOSA-OPS/OMS, OTCA y ORAS-CONHU.

HUMAN AGGRESSIONS BY DOGS: MOTIVATIONS AND CIRCUMSTANCES IN SÃO PAULO CITY, BRAZIL

Vieira AML^{1,2}, Martins CM³, Baquero OS³, Parisi SG², Carneiro E³, Dias RA³.

¹ Pasteur Institute, Sao Paulo, SP, Brazil

² Health Surveillance of Vila Maria/Vila Guilherme, City Health Secretary of Sao Paulo, SP, Brazil

³ Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health, School of Veterinary Medicine, University of Sao Paulo, SP, Brazil

Corresponding: Adriana Vieira

E-mail: adrianavieira1002@gmail.com

Despite the positive aspects of the interaction between human and dogs, unof human beings with OS Dogs no undesirable situations, such as how aggression, which are hum grave Public Health Problem Worldwide. This situation suggests the need to create research instruments and deploy surveillance actions Epidemiologic, sheds light Which as circumstances and characteristics of these attacks. The aim of this study was to characterize human aggressions caused by dogs in the city of Sao Paulo, Brazil between 2009 and 2012. A questionnaire was applied to the victims and their profile, considering the weekdays, day period, lesion and dog characteristics and circumstances of the aggression, was built using multiple correspondence analysis. Of the 959 investigated cases, 259 (27%) occurred during the weekend and 139 (14.5%) at night. In 531 (55.4%), the victims were men and in 477 (49.7%), aged between 18-59 years. In 294 (30.6%) cases, the lesions occurred in the inferior limbs, 714 (74.5%) restricted and 413 (43.1%) deep. In 435 (45.4%), the aggressor was a male dog, 171 (17.8%) above one year of age, 494 (51.5%) mongrel, 318 (33.2%) of average size, 490 (51.1%) previously vaccinated against rabies, 320 (33.4%) that had never bitten before and 213 (22.2%) were neighbors of the victims. In 339 (35.3%) cases, the victims had frequent contact with the dog, 259 (30.8%) approached the dog and in 237 (24.7%), the dog was defending resources. Women above 60 years of age are bitten during the morning in the weekdays by they own dogs, separating

fighters and men aged between 13-17 years are bitten during the weekends in the inferior limbs by neighborhood dogs when handling its resources behind bars or gates. Cases occurred by redirected aggression (in women over 60 years of age) and protection of resources (man between aged 13-17 years). These population strata should be focused in dog aggression prevention strategies.



IDENTIFICATION OF DIFFERENT SPECIES OF MAMMALIANS INVOLVED IN ZONOSSES AS RESERVOIRS OR HOSTS BY SEQUENCING OF THE MITOCHONDRIAL DNA CYTOCHROME B GENE

Carnieli Jr P, Castilho JG, Oliveira RN, Macedo CI, Brandão PE, Batista HBCR

Corresponding: Pedro Carnieli Junior

E-mail: pedrocarnielijunior@ymail.com

About 70% of zoonoses have origin in wildlife. The identification of reservoirs or hosts of zoonoses as rabies is essential to understand the maintenance of pathogens in nature and to help in control of disease. The objective of this study was to standardize a simple and efficient technique for complete sequencing of cytochrome b gene of mitochondrial DNA (mDNA-cit b) for identifying mammals. One hundred fifty nine samples from mammalian tissues were used, including main reservoirs of rabies virus in Brazil as vampire bat *Desmodus rotundus*, dog, common marmoset *Callithrix jacchus* and crab-eating fox *Cerdocyon thous*. Samples were submitted to DNA extraction, PCR and genetic sequencing of mDNA- cit b for genetic identification of species. The analysis of mDNA-cit b genetic sequences was realized by comparing their identity with sequences available in genetic data banks, as GenBank. The standard protocol was effective, since all species from samples could be identified. Thus samples of animal tissue used for analysis, whether for clinical purposes, environmental, forensic and other related sciences can be identified species. In this study were identified among the 159 samples 10 orders, 22 families, 44 genera and 53 species of mammals. The orders identified by this method are evolutionarily distant as marsupials, primates and bats. During the study was not found in used databases sequences of mDNA-cit b for many Brazilian species. Through this study was possible to include in international databases 53 complete sequences of the gene mDNA-cit b from identified species. It is important to highlight complete sequence of the

gene mDNA-cit b from *Cercopithecus* thous include in GenBank at first time. In addition were used in these study 24 samples from common marmosets, all negatives in rabies diagnosis found in the State of São Paulo, southeastern Brazil. The identification of species was possible for all of the samples (13 *Callithrix jacchus*, 9 *Callithrix geoffroyi* and one *Callithrix kuhlii*) proving that these animals are scattered throughout Brazil by human action.

Grant: The São Paulo Research Foundation (FAPESP) (Project Code N°. 2013/23650-0) and Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil.



IN VITRO ANTIVIRAL ACTIVITY OF DALBERGIA VARIABILIS VOGEL AGAINST DIFFERENT GENETIC LINEAGES OF RABIES VIRUS

Gregório ANF¹, Fernandes MES¹, Rodrigues AC¹, Silva ACR¹, Kawai JGC¹, Franco AC², Montanha JA³, Roehe PM², Batista, HBCR¹

¹- Instituto Pasteur – São Paulo-SP

²- Instituto de Ciências Básicas da Saúde / Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS

³- Departamento de Produção e Matéria-prima- Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS

Corresponding: Adriele Naiara Fernandes Gregório

E-mail: batistahbcr@gmail.com

Rabies is one of the oldest recognized infectious disease but it still causes approximately 55.000 deaths for year. Despite of development of Post-exposure prophylaxis (PEP) the cure of human rabies remains a challenge and encourages the research for antivirals against rabies virus (RABV). This study was developed in order to evaluate the antiviral activity of hydroetanolic extract derived from *Dalbergia variabilis* Vogel against RABV. Were used four samples with different genetic lineages of RABV: the standard sample of RABV "Pasteur Virus" (PV), a sample of RABV with genetic lineage characteristic of the wild dog (*Cercocyon thous*) and two samples of RABV with genetic lineages characteristic of bats (hematophagous bat *Desmodus rotundus* and insectivorous bat *Eptesicus furinalis*). To determine the antiviral activity infectious viral titer and one step growth curves of each RABV samples were compared.in presence and absence of *Dalbergia variabilis* Vogel. One step growth curves were assessed following infection of preformed murine neuroblastoma (N2A) cell monolayers at a 100 log₁₀ tissue culture infectious doses per 50 µl (TCID₅₀/50 µl). Adsorption was allowed for 1 hour at 37°C before the inoculum was removed and extracellular virus inactivated with 1 M sodium citrate (pH 3.0). The monolayers were then washed with fresh medium and incubated for different intervals (1; 2; 4; 8; 12; 24; 36; 48; 60; 72; 84 e 96 hours p.i.).

After the incubation period, the supernatants were harvested and assayed for virus. All experiments were performed in triplicate. Virus titers were calculated according to the method of Reed & Muench and expressed as the TCID₅₀/50 μ l. Was identified a reduction of 0.75 TCID₅₀/50 μ l in viral titer for PV, 0.50 for sample of RABV with genetic lineage characteristic of wild dog and 2.5 for both samples of RABV with genetic lineages characteristic of bats. In addition at one step growth curves was observed the antiviral activity of hydroetanolic extract derived from *Dalbergia variabilis* Vogel against all samples of RABV analyzed however the biggest activity was also identified with two samples of RABV with genetic lineages characteristic of bats. Our results shown the antiviral activity of hydroetanolic extract derived from *Dalbergia variabilis* Vogel against different genetic lineages of RABV and more experiments will be made to identified in vivo antiviral activity of this vegetable extract.

Keywords: *Dalbergia variabilis* Vogel, antiviral activity, rabies virus and different genetic lineages.



ÍNDICE DE AGREGAÇÃO E DISPERSÃO DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DAS AGRESSÕES DE CÃES E GATOS A HUMANOS

Picinato MAC¹, Grisolio APR¹, Ramos SB², Nunes JOR³, Carvalho AAB¹, Ferraudo AS¹

¹ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP

² Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca/SP ³ Universidade de Rio Verde – UniRV, Rio Verde/GO

Correspondente: Ana Paula Rodomilli Grisolio

E-mail: anapaula_lta@yahoo.com.br

A possibilidade de transmissão da raiva é a primeira razão que move a investigação de agravos causados por animais. São altos os números de agressões a seres humanos envolvendo principalmente cães, em muitos países. No Brasil, o Ministério da Saúde gasta milhões de reais com as ações de vigilância para a raiva, grande parte na aquisição de imunobiológicos para profilaxia pós-exposição em humanos. No Município de Jaboticabal, São Paulo, Brasil, alguns estudos foram desenvolvidos para analisar as causas de agressões por animais de estimação e a profilaxia das pessoas envolvidas. O presente trabalho objetivou caracterizar os padrões de distribuição espacial das agressões de cães e gatos a humanos nesse Município, na expectativa de contribuir para uma correta indicação de profilaxia antirrábica humana pós-exposição. Foram avaliados 230 notificações de agravos nas Fichas de Atendimento Antirrábico Humano, no período de janeiro de 2014 a agosto de 2015, e construído um banco de dados no Microsoft Office Excel 2007. Calculou-se o índice de dispersão e agrupamento por bairros, e a distribuição espacial foi geoprocessada e analisada pelo software Terraview 4.2.2. Na interpretação dos resultados, foram detectadas 126 (55%) notificações de agravos envolvendo adultos. Quanto às espécies animais envolvidas, foram 197 (86%) agressões por cães e 33 (14%), por gatos. Dessas agressões, 211 (92%) foram por mordedura e 18 (8%), por arranhadura e/ou lambadura. Com relação ao tipo de ferimento, 51 (22%) foram profundos, 157 (68%)

superficiais, e 22 (9%) de outra categoria. Quanto à condição dos animais, 195 (85%) estavam sadios e 35 (15%) eram desconhecidos, desapareceram ou morreram. A distribuição dos pontos foi analisada pela função Kernel que identificou quatro núcleos. Quanto ao índice de agregação e dispersão da distribuição das agressões, foi altamente agregado nos núcleos 1 e 4, já no núcleo 3 a dispersão foi aleatória e no núcleo 2 a distribuição foi uniforme. Destacam-se os bairros do setor periférico onde, de fato, predominam os animais de proprietários, mas esses animais ficam por muitas horas soltos nas ruas. A literatura também relata que o maior número de agressões ocorre dentro de casa, com os próprios donos dos animais, e que cães semirrestritos representam um maior risco de acidentes por mordeduras, pois apresentam atitudes territorialistas. Diante dos resultados, conclui-se que bairros com alto fluxo de pessoas e com grande população canina e felina domiciliada com livre acesso às ruas são áreas de alto risco de agressões por mordedura. As formações dos núcleos permitem melhor compreensão dos padrões comportamentais dos animais agressores e dos fatores associados que podem auxiliar o estabelecimento de estratégias adequadas para diminuir agressões e as consequentes exposições de pessoas ao tratamento profilático antirrábico pós-exposição, além do risco de outras enfermidades zoonóticas.

Agradecimentos: FAPESP; Secretaria de Saúde de Jaboticabal.



INHIBITION OF RECEPTOR SIGNALING BY RABIES VIRUS SURFACE GLYCOPROTEIN PEPTIDES IN *C. ELEGANS*

Hincks J, Monrean B, Taylor BE, Harris MB, Hueffer K University of Alaska Fairbanks, Fairbanks, USA

Corresponding: Karsten Hueffer

E-mail: khueffer@alaska.edu

The rabies virus surface glycoprotein contains an amino acid sequence similar to neurotoxin peptides that binds to and inhibits the function of nicotinic acetylcholine receptor. In preliminary experiments, we have shown that a peptide fraction of the neurotoxin-like-domain of the rabies virus inhibits signaling of central nervous system nAChRs. The same peptide also altered behavior in mice when injected into the CNS. In the nematode *Caenorhabditis elegans* the motor neuron MC acts as a neurogenic pacemaker for pharyngeal pumping and nicotinic receptors are critical to excitation of the pharynx. We used pharyngeal pumping in *C. elegans* as a screening assay for bioactivity of variants of virus glycoprotein peptides. We either administered a 29 amino acid peptide fraction (or a scrambled peptide) by microinjection through the cuticle proximal to the pharynx, or incubated animals for 90 minutes in neurotoxin like peptide in M9 buffer solution. Following treatments, we assessed pharyngeal pumping frequency using a non-invasive electropharyngeogram. Pharyngeal pumping was absent in 6 of 7 animals receiving active peptide injection, while pharyngeal pumping in those receiving scrambled peptide was identical to untreated animals. Pharyngeal pumping was similarly absent or attenuated in animals incubated in active peptide compared to controls. Results indicate that internal and external exposure to a peptide inhibit nicotinic receptor signaling and attenuate pharyngeal pumping in *C. elegans*. Results support the bioactivity of this rabies virus peptide and the utility of *C. elegans* electropharyngeogram as a model to study the role of modification of nicotinic receptors in rabies pathogenesis. Work reported in this presentation was supported by the National Heart Lung and Blood Institute and National

Institute of General Medical Sciences of the National Institutes of Health under awards 1R15HL126105, 1SC2GM112570 and three linked awards number RL5GM118990, TL4 GM 118992 and 1UL1GM118991. The work is solely the responsibility of the authors and does not necessarily represent the official view of the National Institutes of Health or any other funding body.



MAPEAMENTO DE ABRIGOS DE MORCEGOS HEMATÓFAGOS NO ESTADO DO PIAUÍ TRABALHADOS NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2012 A JULHO DE 2016

Barreto FM ⁽¹⁾, Santana AA ⁽¹⁾, Moura, JIA ⁽¹⁾, Oliveira EHS ⁽²⁾, Barreto LM ⁽³⁾, Lima Júnior, FS ⁽⁴⁾, Leal NS ⁽⁴⁾, Rocha TM ⁽⁴⁾

¹. Agência de Defesa Agropecuária do Piauí – ADAPI, Teresina-PI

². Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento MAPA-PI, Teresina-PI

³. Faculdade Estácio de Teresina, Teresina-PI ⁴. Faculdade Maurício de Nassau/Aliança, Teresina-PI

Correspondente: Flávia M. Barreto

E-mail: flaviamelobarreto@yahoo.com.br

No mundo existem mais de mil espécies de morcegos. Destas, as três espécies de morcegos hematófagos (MH) existentes – *Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* e *Diaemus youngi*, são encontradas no estado do Piauí. Os MH possuem uma grande capacidade de adaptação às modificações introduzidas pelo homem ao ambiente, tendo a capacidade de utilizar diferentes tipos de abrigos diurnos para a sua sobrevivência. O presente estudo objetivou mapear os abrigos de morcegos hematófagos do estado do Piauí, cadastrados e georreferenciados pela Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Piauí-ADAPI, no período de janeiro de 2012 a julho de 2016. O estado do Piauí possui uma área territorial de 251.611,932 km², localizado no noroeste da Região Nordeste. Limita-se com cinco estados: Ceará e Pernambuco a leste, Bahia a sul e sudeste, Tocantins a sudoeste e Maranhão a oeste. Delimitado pelo Oceano Atlântico ao norte. Possui uma população estimada de 3.204.028 habitantes, distribuídos em 224 municípios. Utilizou-se os cadastros de abrigos arquivados na ADAPI e foram classificados em abrigos naturais ou artificiais. Foram trabalhados em 108 abrigos de morcegos hematófagos neste período, em 30 municípios sendo, 89 abrigos naturais e 19 artificiais. 83 abrigos (76,8%) encontram-se na região sul e 25 abrigos (23,2%) na região norte do estado. Analisando os casos positivos de raiva em herbívoros no estado nesse período, verificou-se que estavam concentrados em sua maioria na região sul,

levando-nos a crer que a quantidade de abrigos com presença de morcegos hematófagos, é um fator que aumenta a probabilidade de aparecer a doença. Todos os abrigos trabalhados neste período foram georreferenciados com GPS. Tal ação é de extrema importância para o monitoramento dos abrigos e da presença ou não de morcegos hematófagos. Em 71 destes (65,7%), foram detectadas a presença de pelo menos uma espécie de morcego hematófago durante os trabalhos, onde chamamos de abrigos ativos. A oferta de alimentos, grande adaptação, ausência de predadores naturais, assim como a falta de monitoramento periódico destes abrigos cadastrados pelo órgão oficial, faz com que a população desses animais permaneçam em constante crescimento. A falta de recursos para intensificar as ações de cadastramento, controle e monitoramento de abrigos de morcegos hematófagos prejudica os serviços realizados pela Agência.

Palavras-chave: Raiva, abrigos, morcegos hematófagos.



PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DA RAIVA NO ESTADO DO CEARÁ – BRASIL

Francisco Atualpa Soares Júnior

Correspondente: Francisco Atualpa Soares Júnior

E-mail: atualpa@bol.com.br

O perfil epidemiológico da circulação do vírus rábico vem mudando sensivelmente nos últimos 15 anos. No início dos anos 2000, a preocupação com a raiva era focada em cães e gatos, sendo estes os alvos principais das campanhas de controle e erradicação da transmissão da doença. Com o avanço das campanhas de vacinação de animais domésticos e de produção, bem como, pelo foco dado a vigilância da raiva silvestre no Estado do Ceará, onde diversos profissionais foram treinados para fazer o monitoramento, detectar possíveis animais silvestres infectados e enviar amostras ao Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN-CE, o perfil das amostras animais positivas mudou sensivelmente. Nos últimos 3 anos, mais de 70% das amostras positivas de animais para raiva são oriundas de animais silvestres. Destas, destacam-se 3 espécies: Raposas, Saguis e Morcegos. Dentre os principais fatos para o aumento de amostras positivas em animais silvestres, podemos destacar a cobertura maciça das campanhas de vacinação de cães, gatos e animais de produção, aliados a um maior esclarecimento da população sobre a importância do uso das vacinas. Ainda, o crescimento da população humana sobre as áreas rurais, o que tem diminuído o habitat natural destas espécies, fazendo com que se aproximem cada vez mais das residências, o que aumenta a possibilidade de acidentes. Com relação as outras espécies acometidas, temos a incidência cada vez maior em animais de produção e menor em cães e gatos. Percebemos que o vírus rábico tem circulação frequente em animais silvestres. Os hábitos culturais da população de buscar aproximação com algumas espécies como os saguis, criá-las e alimentá-las, além de outros fatores como desmatamento, maior disponibilidade de comida e lixo nas residências que adentram o espaço

natural destes animais são fatores que proporcionaram o aumento de casos de agressões e, conseqüentemente, maior monitoramento da circulação no meio silvestre. A atenção das autoridades de Saúde com a vigilância da raiva silvestre deve ser cada vez mais primordial, diante da mudança de cenário de circulação viral.

Agradecimentos: LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DO CEARÁ - LACEN

PATHOGENICITY OF RABIES VIRUS ISOLATED FROM DIFFERENT BRAZILIAN RESERVOIRS

Fuoco NL , Asano KM , Chaves LB , Ribeiro OG , Silva SR , Scheffer KC , Katz ISS.

Corresponding: Sandriana dos Ramos Silva

E-mail: sandrianabr@gmail.com

Rabies is an acute progressive, which usually causes a fatal encephalomyelitis in many species of mammals. Rabies lyssavirus (RABV) is a member of the Lyssavirus genus within the Rhabdoviridae family. Based on the clinical presentation, rabies can be classified into encephalitic (furious) or paralytic (numb) rabies. According to some studies, the diversity of clinical manifestations of rabies may result from different pathogenic mechanisms of the virus. In this context, here we compared clinical symptoms and mortality of RABV variants isolated from *Eptesicus* sp, *Myotis* sp. or *Cerdocyon* thous. For this purpose, isolates of each variant were inoculated in 10 five-week-old Swiss Webster mice via intradermal route. After inoculation, mice were monitored daily for 40 days for body weight and rabies clinical signs. Our results show that isolated from *Cerdocyon* thous have higher mortality and longer incubation period in mice after i.d. infection when compared to *Eptesicus* bats and *Myotis* bats isolates. These results together support the hypothesis that isolated from *Cerdocyon* thous are more pathogenic than other studied samples. Therefore, these studies open new perspectives for an improved understanding of street RABV pathogenesis.

Finantial support: Insituto Pasteur/São Paulo/brasil.



PERFIL DOS ATENDIMENTOS ANTIRRÁBICOS HUMANOS, AMAZONAS, 2011-2015

Fernandes VC¹, Campos ACR¹.

¹ Fundação de Vigilância em Saúde – FVS

Correspondente: Vânia C. Fernandes

E-mail: vaniacavalcantifernandes@gmail.com

A raiva é uma zoonose transmitida ao homem pela inoculação do vírus contido na saliva do animal infectado, principalmente pela mordedura e, menos frequente por arranhadura e lambedura. A doença se caracteriza por uma encefalite aguda e fatal. Todos os mamíferos são suscetíveis ao vírus da raiva e são transmissores em potencial. A prevenção da raiva humana se baseia no esquema profilático antirrábico, com o uso de vacina e soro segundo as normas do Ministério da Saúde. O atendimento antirrábico humano é de notificação compulsória no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan, sendo o agravo de maior número de notificações no Amazonas, com mais de 10 mil notificações ao ano. O objetivo do presente trabalho é descrever o perfil desses atendimentos no Amazonas, no período de 2011 a 2015, em um estudo descritivo retrospectivo dos registros. Para análise dos dados foram utilizadas variáveis sociodemográficas (Município, idade, sexo, raça/cor e zona de residência) e variáveis específicas (tipo de exposição ao vírus rábico, localização do ferimento, tipo de ferimento, espécie de animal agressor, profilaxia indicada, se houve interrupção da profilaxia, qual o motivo da interrupção, se houve abandono da profilaxia, e se a unidade procurou o paciente), empregando frequências simples e relativas. Os softwares utilizados foram o Tabwin 32 e Microsoft Excel 2010. No período descrito, foram registrados mais de 53 mil notificações de atendimento antirrábico no Amazonas, sendo que, o maior número de atendimentos antirrábicos 58,7%, ocorreu na capital do estado e o município com o segundo maior número de atendimentos foi o de Manacapuru (3,7%). Quanto ao agredido, a faixa etária

que revelou a maior frequência foi a de 5 a 9 anos (15,7%) e em indivíduos do sexo masculino (56,8%). A zona urbana foi o local onde ocorreu o maior número de atendimentos (80,6%). A exposição por mordedura (89,1%) foi a maior responsável pelos atendimentos antirrâbicos e os membros inferiores (46,6%) o local mais acometido. A espécie canina foi a responsável pelo maior número de agressões (87,7%). Quanto ao tratamento indicado, houve predominância da observação + vacina (56,3%) e observação do animal (18,7%). O abandono foi o motivo em 72,8% das interrupções dos tratamentos, e destes, 74,7% dos pacientes foram procurados pelas unidades de saúde. Dos registros de abandono, 2,5% tiveram como espécie agressora animais do ciclo silvestre, e destes, 11,7% não foram procurados pela unidade de saúde. A gravidade da doença torna indispensável o acompanhamento a pacientes submetidos ao atendimento antirrâbico, principalmente aos que foram expostos a agressões por animais silvestres e que interromperam o tratamento.



PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DAS AGRESSÕES POR ANIMAIS DOMÉSTICOS E SILVESTRES NA 10ª REGIÃO DE SAÚDE/LIMOEIRO DO NORTE-CE, NO PERÍODO DE 2011 A 2016

Chaves CS¹, Rodrigues VC¹, Lima MFC¹, Lima FMG¹, Rouberte ESC², Dantas I A³, Peixoto VMMR¹

¹ 10ª Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, Secretária de Saúde do Estado do Ceará. ² Professora da Universidade da Integração Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. ³ Secretaria Municipal de Saúde de Jaguaribara-Ceará.

Correspondente: Cristianne Soares Chaves

E-mail: cristiane.chaves@saude.ce.gov.br

A raiva é transmitida ao homem pela inoculação do vírus presente na saliva e secreções de um animal infectado, e tem letalidade de aproximadamente 100%. Sua prevenção é baseada no tratamento profilático quando houver suspeita de exposição ao vírus da raiva, sendo este baseado nas características da lesão provocada pelo animal agressor, tipo de animal e sua possibilidade de observação. O estudo tem como objetivo conhecer o perfil epidemiológico das agressões por animais domésticos e silvestres na 10ª Região de Saúde de Limoeiro do Norte-Ce, no período de 2011 a 2016. Realizou-se a partir de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINANET, 10ª CRES) dos onze municípios da Região de Saúde, no período de janeiro de 2011 a junho de 2016. Foram analisados o total de agressões por tipo de animal, sexo e idade do paciente, tipo de ferimento, tipo de exposição, condição do animal e a conduta de profilaxia da raiva adotada. No período foram notificados 6716 pacientes, 51% destes do sexo masculino, com principal faixa etária acometida de 20 a 49 anos (35%). As agressões por animais domésticos representaram 93,6% dos acidentes, enquanto 6,4% foram por animais silvestres. Predominou o ferimento único em 56% dos casos, sendo a mordedura como principal tipo de agressão, com 87% das notificações. Cerca de 72,6% dos animais foram considerados sadios e 18,4% suspeitos. O tratamento instituído para 3673 (54%) pessoas foi observação e vacina.

Indicou-se a observação para 645 (9,5%) dos pacientes, sendo a conduta de somente vacina aplicada em 22,9% das agressões. Um percentual de 9,7% fizeram uso de soro e vacina. O tratamento profilático pós-exposição instituído é na maioria de vezes baseado na utilização da vacina, e que a conduta de apenas observação, que deve ser utilizada em acidentes leves não foi relevante. E ainda, se 72,6% dos animais foi considerado clinicamente sadio no momento da agressão, sugere-se que grande parte desses pacientes poderia ter sido dispensada do tratamento e isso ocorreu em apenas 0,2% dos casos. Ressalta-se que a conduta de observação foi aplicada em apenas 9,5% das notificações. Quando analisamos a série histórica das agressões por animais silvestres observa-se um crescimento, mesmo considerando o principal tipo de agressões causadas por animais domésticos. Torna-se necessária a correta aplicação da normatização de profilaxia antirrábica, como a atuação multidisciplinar. Além disso, o preenchimento adequado da ficha de notificação é importante por interferir diretamente na adoção de condutas.



PLANO DE AÇÃO DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA RAIVA URBANA E SILVESTRE NA FRONTEIRA MARANHÃO E PARÁ

Sonivalde Silva Santana, Daniel Soares Saraiva, Neuder Wesley França da Silva, Cleide Cunha Machado, Damião Renildo de Macedo Barbosa, Giselle Mesquita de França Galvão.

Correspondente: Sonivalde Silva Santana

E-mail: sonivalde@yahoo.com.br

A raiva é uma doença do sistema nervoso central que pode acometer todos os mamíferos, inclusive os seres humanos. É caracterizada por uma encefalomielite fatal causada por vírus da família Rhabdoviridae e gênero Lyssavirus. Dados do Ministério da Saúde revelam que os Estados do Maranhão e Pará possuem os maiores números de casos de raiva humana causados por morcego hematófago desde a década de 80, sendo que no surto de 2004 e 2005 foram registrados 36 óbitos no Pará e 24 óbitos no Maranhão. Além disso, a raiva urbana também tem se manifestado com vários casos notificados, especialmente no Maranhão. Desta forma há contínua preocupação em manter a vigilância e controlar a raiva nesses Estados nas suas áreas de risco, principalmente na região de fronteira; assim elaborou-se um Plano com objetivo de fortalecer a vigilância e o controle da raiva urbana e silvestre na fronteira entre o Maranhão e Pará por meio de algumas ações específicas como: desenvolvimento de atividades educativas com produção e distribuição de material específico, controle da ocorrência da raiva em cães e gatos, redução da incidência de casos em herbívoros, controle da população de morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) em área de risco, promoção, supervisão e avaliação dos serviços de saúde e agricultura nos municípios prioritários, capacitação de profissionais de saúde em coleta de amostras de encéfalo em cães, gatos e outros mamíferos para análise laboratorial, estabelecimento de um fluxo de informações entre os Estados para definir e agilizar ações conjuntas. O período para elaboração e execução do Plano será de 2015 a 2018. Espera-se que após a execução das ações propostas neste Plano, os Estados do Maranhão e Pará possam se

fortalecer em relação a Vigilância Epidemiológica, Educação em Saúde, no monitoramento da circulação do vírus da raiva, no controle da população de morcegos *D. rotundus*, na estruturação e treinamento das equipes para atuarem de forma mais eficiente e rápida nos casos de focos de raiva e manutenção do fluxo de informação para que se possa minimizar os riscos e evitar que novos casos de raiva apareçam na população humana e animal. Agradecimentos à Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão/Brasil.



PROFILE ANTI-RABIES HUMAN SERVICE FOR BATS'S ATTACKS BETWEEN 2000 AND 2015 IN THE STATE OF PARÁ BRAZIL

Silva NWF¹, Andrade JAA¹, Lima RJS¹, Begot AL¹, Abreu EMN¹, Esteves FAL¹, Brito RMO¹, Baptista ZMF¹

¹- State Department of Health of Pará - SESPA, Belém-Pará-Brazil

Corresponding: Neuder Wesley França da Silva

E-mail: nwvet@hotmail.com

The bats's attacks in humans are considered high risk, this time are for exposure to rabies by this species, according to Technical Standards of the Ministry of Health, the anti-rabies treatment serum plus vaccination. According to the evaluation realized with human anti-rabies records treatment of Notifiable Diseases Information System-SINAN in the period 2000-2015 in the State of Pará, 23,448 notifications were recorded by bats's attacks, which represent 5.16% of notifications by animals aggression to humans, being surpassed only by reports of attacks by dogs 358,151 (78.84%), followed by feline 48,689 (10.72%). During the period, it was observed that of the 144 municipalities in the state, only Faro, Brejo Grande do Araguaia and Sapucaia, in others words, 2.08% not register anti-rabies treatment caused by bats's attacks, although the surrounding municipalities submit notifications, and Anapu is the one who recorded bats's attacks since 2000. Of the 23,448 notifications bats's attacks were recorded 24,502 offensives, including the hands and/or feet have the most frequent wound seat with 57.02% (13,971), followed by head/neck 18.83% (4,614), lower limbs 14.30% (3,503), upper limbs 6.33% (1551), trunk 1.98% (486) and mucosal 1.54% (377). The frequency of attacks that conditioned on deep wounds represented 52.60% (10,685), superficial 44.70% (9,080) and lacerating 2.69% (547). The single wound 61.76% (14,474), multiple 25,15% (5,897), without wound 1.16% (271) and ignored/white 11.97% (2,806). Regarding human anti-rabies treatment 34.60% (8,112) of the patients attacked not discontinued, interrupted 19.43% (4556) and ignored/white 45.97% (10,780). The treatment give up occurred

in 18.37% (4,308) of cases of interruption, Health Unit indicated 0.64% (149), transfer 0.44% (102) and ignored/white 80.56% (18,889). Of absentees the Health Unit searched the patient often of 6.04% (1416), did not seek to 5.70% (1336) and ignored/white 88.26% (20,696). Considering that the records classified as unknown/white, significant high frequencies represent an unknown quantity for the complete treatment of patients post-exposure immune protection status of those permeates the possibility of appearance of human rabies cases. Despite the high level of risk for rabies by humans bats's offensives, the profile of the patients described in the SINAN has been demonstrated that active search for patients who abandoned treatment has low priority for epidemiological surveillance, because the frequency of treatment give up is significant and worrying. Although the state, some municipalities and agricultural defense develop population control activities Desmodus rotundos in areas with aggression records in human and/or animal, have not registered positive vampire bats to the rabies virus captured during the control and shipping activities sample to the laboratory for virus research, however were detected cases of rabies in several animal species with serologic variant for bats.



RABIES IN CANADA – 2015

Knowles MK⁽¹⁾, Kush J⁽²⁾, Harding M¹, Bangs K⁽¹⁾, Nadin-Davis SA⁽¹⁾, Iqbal Z⁽²⁾, Fehlner-Gardiner C⁽¹⁾

⁽¹⁾ Canadian Food Inspection Agency (CFIA) Ottawa Laboratory – Fallowfield, Ottawa, Canada;

⁽²⁾ CFIA Lethbridge Laboratory, Lethbridge, Canada.

Corresponding: Christine Fehlner-Gardiner

E-mail: Christine.Fehlner-Gardiner@inspection.gc.ca

In 2015, the CFIA laboratories tested 2295 samples for rabies, of which 151 were positive. Of the positive samples, 40 were confirmatory tests on wildlife surveillance samples, with no known human or animal contacts, which were initially tested by Direct Rapid Immunohistochemical Test for Rabies or by a traditional immunohistochemistry test in provincial laboratories. At the CFIA, the majority of samples were analysed by the fluorescent antibody test, with a small number tested by immunohistochemistry (n=3) or quantitative RT-PCR (n=1, human suspect case, negative). Bats accounted for the highest proportion of cases (33%), followed by raccoons (22.5%), skunks (16.6%) and arctic foxes (9.3%). In 2015, 6.6% of samples submitted for testing were positive, compared to 3.3% in 2013 and 4.9% in 2014. This increase in the proportion of positive samples was attributable to a decrease in the number of samples submitted for testing, the result of a shift of responsibility for sample collection from the federal to the provincial governments which occurred in April 2014, combined with an increased number of cases from new rabies outbreaks in wildlife. Spill-over of wildlife virus variants into domestic species exhibited patterns similar to those of previous years, with cases detected in dogs (n=9), bovines (n=3), cats (n=2), and one horse, the result of either skunk-variant virus in western Canada or fox-variant virus in northern Canada, Labrador, and southwestern Ontario. A fox-variant virus outbreak first detected in Labrador in 2014 continued into 2015 with 12 cases detected. There were also 17 cases due to this variant in Nunavut, four cases in northern Quebec and one case in southwestern Ontario, less than 2 km from the site of the last detection of this

virus variant in the province in 2012. The incursion of rabies caused by the raccoon-variant virus into New Brunswick, first reported in June 2014, continued into 2015 with 24 cases detected. Raccoon-variant rabies was detected in and around from the southwestern Ontario city of Hamilton in 2015, with 10 cases reported in December after a decade of the province being free of this rabies virus variant. Whole genome sequence (WGS) comparison of the virus from the index case with isolates from New York, Vermont, Pennsylvania, New Hampshire and Massachusetts showed that the Hamilton virus clustered most closely with isolates from southeastern NY. It was very distinct from isolates from western NY, suggesting that the source of the Hamilton outbreak was a long distance translocation event, rather than a gradual undetected spread from Niagara County, NY. This outbreak has continued into 2016 with a total of 157 cases (51 skunks and 106 raccoons) detected up to August 2 2016.



RABIES PRE-EXPOSURE VACCINATION PRACTICES AMONG AT RISK PERSONS

Blanton JD⁽¹⁾, Shwiff S⁽²⁾, Ebel M⁽³⁾, Lee J⁽³⁾

¹. CDC, Atlanta, USA

². USDA, Ft. Collins, USA

³. University of Georgia, Athens, USA

Corresponding: Jesse D Blanton

E-mail: Asi5@cdc.gov

Exposure to zoonotic diseases is a potential risk factor anytime a person has close interactions with mammals; however, certain occupations have a much higher risk than the general population. National guidelines have been put into place for persons with increased risk of rabies exposure, recommending rabies vaccination and periodic monitoring of rabies neutralizing antibodies to ensure an adequate immune response. Despite these recommendations, and the high mortality rate of rabies, adherence is inconsistent across different risk groups, with vaccination rates below 40% reported in some studies. Few studies have examined adherence to rabies vaccination recommendations, and have mostly focused on veterinarians. A broader analysis of occupational groups and risk factors is necessary to identify potential barriers to higher vaccination rates and adherence to sero-monitoring recommendations. A cross-sectional questionnaire was distributed via E-mail: for self-administration online. Targeted recruitment occurred through veterinary, veterinary technician, animal control, and wildlife rehabilitator professional organizations. Participants were contacted by organization newsletters or E-mail: distribution letters and self-enrolled to complete an online survey. The survey collected basic demographic information, occupational information on animal contact rates, awareness of current pre-exposure vaccination recommendations, vaccination practices, risk taking profiles, and economic assessments. Approximately 2,500 participants completed the survey. Respondents were predominantly female (88%) with a mean age of 41.5 years (SD=12.31). On average, respondents had worked

in their current position for 11 years, and had experienced 7.5 animal bites (SD=28.2). Nearly 75% of respondents were previously vaccinated against rabies, but only 20% of respondents were aware of the appropriate postexposure prophylaxis (PEP) regimen for persons previously immunized against rabies (i.e. 2 dose booster). Nearly 50% of respondents were aware that rabies antibody titers should be checked every 2-years for persons working in rabies endemic areas. However, more than 70% of respondents were unaware of the antibody titer level used to determine when a booster is needed according to US recommendations. Evaluating practices related to national rabies vaccination recommendations, especially considering individual risk and economic profiles, is important to improve awareness and adherence. The findings of this survey provide information that may be helpful in making evidence based updates to the human rabies vaccination recommendations in the US.



RABIES SEROPOSITIVITY IN FREE-RANGING WILD ANIMALS AND CERDOCYON THOUS: ARE THESE ANIMALS SENTINELS FOR RABIES?

Peres MG¹, Bacchiega TS¹, Appolinário CM¹, Vicente AF¹, Mioni MSR¹, Castro FF¹, Ribeiro BLD¹, Pelicia VC¹, Fonseca CRS¹, Martoreli LFA², Kataoka, APGA², Megid J^{1*}

¹ UNESP – Univ. Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

² Laboratório de Raiva do Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo, Brasil

Corresponding: Jane Megid

E-mail: jane@fmvz.unesp.br

In Brazil, cases of rabies in terrestrial wild mammals have been reported in the north and northeast, but in the south and southeast regions, cases of rabies have been reported only in hematophagous and non hematophagous bats. The crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) is the main wild canid host of the rabies virus in Northeast Brazil, but rabies has been detected in other terrestrial wild mammals, such as hoary fox (*Pseudalopex vetulus*), crab-eating raccoon (*Procyon cancrivorus*), marmoset (*Callithrix jacchus*), capuchin monkey (*Cebus apella*) and ocelot (*Leopardus pardalis*). Considering this panel, the present study aimed to analyze previous contact of wild carnivores and marsupials with the rabies virus by the detection of rabies virus antibodies and an evaluation of their possible involvement as rabies hosts in the state of São Paulo of Southeast Brazil. The study was conducted in 2011 in rural areas of Torre de Pedra, Bofete and Anhembi, municipalities localized in the central west region of São Paulo, Brazil. These areas were chosen due to their possibility of being epidemiological silence areas because numerous shelters of hematophagous bats were registered by the Ministry of Agriculture (MAPA), and only one case of rabies in a production animal in Bofete was recorded in the recent ten-year period (2001-2011). Neutralizing antirabies antibodies were detected in 26 (34%) terrestrial wild mammals while 50 (66%) were negative. After a serological sampling of terrestrial wild mammals in 2011, one bovine rabies case associated with hematophagous bats was registered in

Bofete in 2013, and other bovine rabies cases were registered in Anhembi in 2015 (DA, 2013 e 2015). Recent data show that rabies cases in production animals (one bovine and one equine) were recorded in Anhembi between January and May of 2016 (DA, 2016). Beyond the herbivores, one hematophagous bat (*Desmodus rotundus*) captured from a shelter by agriculture ministry rabies control agents was positive for rabies, and one non-hematophagous bat (*Molossus molossus*) found on the floor on a farm near a bovine outbreak was also rabies-positive . Equine rabies cases have also occurred in one of the three farms in which *C. thous* were seropositive and a hematophagous bat shelter is located in very close proximity .The fact that herbivorous rabies cases were recorded in subsequent years after our sample collection reinforces previous works that demonstrated the role of wild animals as sentinels for infectious diseases. The results suggest that the rabies virus was circulating in wild animals in this region and preceded the occurrence of rabies in production animals, reinforcing the importance of those animals in rabies epidemiology.



RAIVA EM FELIS CATTUS: LINHAGEM GENÉTICA COMPATÍVEL COM VÍRUS DE CANÍDEO SILVESTRE

Lima MFC¹, Chaves CS¹, Sousa, HN¹, Lima FMG¹, Rodrigues VC¹

¹ 10ª Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, Secretaria da Saúde do Estado do Ceará

Correspondente: Maria de Fátima Costa Lima

E-mail: fatima.costa@saude.ce.gov.br

No Brasil há municípios, assim como a região nordeste, que são considerados como área de risco para raiva animal. Para essa situação, existem alternativas a serem desenvolvidas, como atividades de vigilância e controle (MS, 2016). Este trabalho consiste em relatar agressões da espécie felina a três humanos, com a confirmação do vírus positivo da raiva e identificação para canídeos silvestre *Cerdocyon thous* (variante Vr2). As informações foram obtidas da proprietária do animal e dos dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN e Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial – GAL. O relato descreve as agressões do *Felis catus*, em 2015, no município de Tabuleiro do Norte/CE. A proprietária do felino, E. L. C. C., 49 anos, relatou que nos dias 15 e 16 de agosto, o animal, estava estranho e diferente do habitual. No dia seguinte, ao acariciá-lo, a proprietária foi agredida com uma mordida profunda, sendo que este agrediu mais duas pessoas, arranhando L. C. C., 30 anos, e arranhando e mordendo M. L. A., 72 anos. Somente dia 21 de agosto, L. C. C., começou o tratamento, mas as demais pacientes já estavam em terapia. No mesmo dia o felino morreu, sendo a medula enviada ao Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN. Realizou-se o exame imunofluorescência direta e prova biológica, confirmando o vírus da raiva. Posteriormente foi enviada amostra para o Instituto Pasteur em São Paulo, obtendo resultado compatível com o vírus da raiva isolado de canídeos silvestre *Cerdocyon thous* (compatível com variante Vr2). Após a confirmação do resultado do exame, a proprietária do felino informou a presença de um canídeo, conhecido popularmente, como “cassaco”, rondando o seu quintal.

A vigilância em saúde municipal e a 10ª Coordenadoria Regional de Saúde do Estado do Ceará realizaram ações, dentre elas: capacitação de profissionais de saúde sobre a Norma Técnica de Raiva; antecipação da campanha de vacinação antirrábica em 2015, sendo duas campanhas no ano; inserção do tema Raiva nas ações do Programa de Saúde na Escola; tratamento aos pacientes; monitoramento das doses de vacina, evitando abandono de tratamento e envio ao LACEN das amostras de animais suspeitos. O município em 2015 apresentou no SINAN o quantitativo de humanos agredidos pelas seguintes espécies: 104 por caninos, 75 por felinos, dois por primatas (macacos), um por raposa e quatro por outros, totalizando 186 agressões aos seres humanos. No mesmo ano em decorrência das agressões, foi notificado no sistema GAL o envio de amostras para o LACEN, dos seguintes animais: um canino, quatro felinos, quatro morcegos e uma raposa. Após análise laboratorial, somente um felino apresentou resultado positivo, justamente o animal que agrediu as três pessoas. Diante do exposto, constatou-se que o vírus da raiva do animal silvestre está se propagando entre outras espécies. A zoonose está presente no meio animal, podendo provocar riscos irreversíveis quando não tratado no tempo oportuno.



SEQUENCING AND PHYLOGENETIC ANALYSES OF THE NUCLEOPROTEIN GENE OF RABIES VIRUS ISOLATED FROM CATTLE IN SOUTHERN BRAZIL

Fernandes MES¹, Gregório ANF¹, Almeida LL², Rosa JCA², Franco AC³, Kawai JGC¹, Oliveira RN¹, Carnieli Jr P¹, Ferreira JC^{2,3}, Roehe PM^{2,3}, Batista HBCR¹

¹ Instituto Pasteur, São Paulo, SP, Brazil

² FEPAGRO Saúde Animal, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Eldorado do Sul, RS, Brazil

³ Universidade Federal do Rio Grande do sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding: Marcélia Emanuele Sad Fernandes

E-mail: marceliaemanuele@hotmail.com

Bats and dogs are the main reservoirs of the rabies virus (RABV), in Latin America and are responsible for the maintenance of the different cycles of infection, namely the “aerial, sylvatic and rural” cycles, where bats are major protagonists, and the urban cycle, where domestic dogs are main reservoirs. In the states of Rio Grande do Sul (RS), and Santa Catarina (SC), Southern Brazil, rabies in domestic dogs has been successfully controlled for more than 20 years. However, rural rabies is still endemic; in cattle has been prone to periodic oscillations in frequency in both states. Despite the plethora of studies on genetic analyses of Brazilian RABV isolates, viruses from Southern Brazil have only scarcely been investigated. This work was performed to identify genetic lineages of RABV circulating in states of RS and SC, in attempting to contribute to the understanding of the reasons for perpetuation of rabies in the region. Fifty RABV cattle isolates from RS and 9 from SC were selected and submitted to RT-PCR and genetic sequencing. In RS, the circulation of two sublineages (1A and 1B) of RABV could be identified, both with characteristics of genetic lineages of viruses usually detected in haematophagous bats of the species *Desmodus rotundus*. In SC, only one sublineages of RABV, 1B, was identified. No specific genetic markers that could be related to the viruses' geographical distribution were identified.

Keywords: Cattle, distribution, rural rabies genetic lineages, Rio Grande do Sul and Santa Catarina.

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA AGRESSÃO POR MORCEGOS EM HUMANOS NOS MUNICÍPIOS DE VISEU, AUGUSTO CORRÊA E ADJACÊNCIAS, REGIÃO DO NORDESTE PARAENSE, NO PERÍODO DE 2000 A 2015

Nahum KCP^{1*}, Silva NPS¹, Nascimento KKG¹, Abel¹ *Autor para correspondência,

¹ Laboratório de Epidemiologia e Geoprocessamento (EpiGeo), Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará (UFPA)

Correspondente: Karina da Cruz Pinto Nahum

E-mail: karina_nahum@yahoo.com.br

Surtos de raiva humana transmitida pelo morcego hematófago *Desmodus rotundus* em 2004 e 2005 no Nordeste Paraense fizeram desta uma área sentinela para pesquisas em quirópteros. Entretanto, estudos que caracterizam as agressões por essa espécie na região são escassos. O objetivo deste trabalho é analisar os casos de agressões por morcegos em humanos nos municípios que pertencem ao 4º Centro Regional de Saúde do estado do Pará (n=16), nos últimos 15 anos. Para isso, realizou-se um estudo retrospectivo descritivo utilizando o banco de dados do Sistema de Informação de Agravos Notificação (SINAN) cedido pela Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Pará (SESPA). Entre os anos de 2000 e 2002 nenhum atendimento provocado por morcegos foi realizado. Entretanto, a partir de 2003, ocorreram 7748 atendimentos antirrábicos humanos nos quais a espécie agressora foi o morcego. Os municípios que apresentaram mais notificações foram Viseu (47,2%) e Augusto Corrêa (38,6%). Os outros 14 municípios que compõem essa regional somaram 14,3% dos atendimentos. Esses indivíduos pertenciam ao sexo masculino (57,7%) e residiam em zonas rurais (89,8%), sendo a maioria crianças entre 0 e 14 anos (60,5%). Em relação ao tipo de exposição, a mordedura foi a mais relatada (89,6%). Quanto à localização anatômica dos ferimentos, mãos/pés (63,2%) foram os mais atingidos seguidos de cabeça/pescoço (31,6%) e membros inferiores (11,3%). O tipo de ferimento era único (73,1%) e múltiplo (25,3%) e na maioria das vezes a lesão era profunda (75,6%). Quanto à condição do

animal, os profissionais de saúde que preencheram esse campo consideraram o morcego como suspeito (11,7%) e raivoso (9,3%). Em 92,7% dos casos foi indicado o soro antirrábico humano e em 7,3% não houve indicação, não sendo o adequado. Apenas 44,7% concluíram o tratamento. Entretanto em 67,6% dessas notificações este campo estava em branco. O aumento das notificações no biênio 2004-2005 nos municípios de Viseu e Augusto Corrêa, já era esperado tendo em vista a divulgação dos casos humanos na mídia na época. Contudo, chama a atenção a quase ausência de notificação de municípios vizinhos, que apresentam as mesmas condições ambientais e apresentam em comum população em situação de vulnerabilidade. Nas fichas foram observados vários campos preenchidos com “ignorado” ou em branco, constatando a falta de conhecimento sobre o preenchimento deste formulário. Ainda, o estudo revela condutas inadequadas ao tratamento profilático da raiva, por parte dos profissionais de saúde. Contudo outros estudos devem ser conduzidos analisando outras variáveis e verificando outros sistemas de informação em saúde a fim de promover uma melhor compreensão desse agravo no estado.



SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA RAIVA NO ESTADO DO PARÁ. 1995-2015

Lima RJS¹, Begot AL¹, Abreu EMN¹, Baptista ZMF¹, Brito RMO¹, Esteves FAL¹, Silva NWF¹.

¹ Secretaria de Saúde Pública do Pará; Belém-Pará/Brasil

Correspondente: Alberto Lopes Begot

E-mail: gtzoonoses@gmail.com

O Estado do Pará, um estado amazônico, com rios caudalosos e dimensões continentais, ao longo de décadas, se constituiu como um dos recordistas nacionais em casos de raiva humana. Muitos casos eram registrados tanto na zona urbana, quanto nas zonas rurais dos municípios, tendo cães e gatos como principais transmissores. Um incipiente sistema de vigilância epidemiológica era utilizado. Nos anos de 2004 e de 2005, surtos de raiva humana ocorrem em municípios do Estado, causando surpresa pela magnitude e pelos novos atores no processo de transmissão: morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus*. Este trabalho visa demonstrar a gravidade do problema e a evolução do Programa de Profilaxia e Controle da Raiva no Estado do Pará ao longo desses anos e as estratégias utilizadas. Para a compilação dos dados apresentados foram utilizados registros de casos do Sistema Nacional de Agravos de Notificação, fichas de casos de raiva humana ocorridos no Estado do Pará, informações contidas em sistema de dados do setor de zoonoses dos municípios envolvidos e da Coordenação Estadual de Zoonoses. No ano de 1995, o Estado do Pará registrou 08 (oito) casos de raiva humana transmitidos por cães, um plano emergencial de controle foi elaborado e um enorme esforço passou a ser realizado, conseguindo reduzir esse número para 01 (um) em 2002 e 0 (zero) em 2003. Porém no ano de 2004, registrou 22 (vinte e dois) casos de raiva humana transmitidos por morcegos e, no ano seguinte, um outro grande surto também transmitido por morcegos hematófagos, envolvendo municípios do nordeste do Estado do Pará, ceifou a vida de 18 (dezoito) pessoas. De outubro de 2005 até outubro de 2016, nenhum caso humano ocorreu no Estado do

Pará. A inexistência de casos de raiva humana há mais de 10 (dez) anos, no Estado do Pará, não significa dizer que a situação esteja cômoda. Existe um constante risco da recrudescência ou da ocorrência de novos surtos, visto que, em diversas regiões, especialmente áreas ribeirinhas, tem se registrado agressões em humanos por morcegos hematófagos, não obstante a constante realização de ações de controle e monitoramento desses quirópteros. Apoio: Secretaria de Saúde Pública do Pará (SESPA); Instituto Evandro Chagas (IEC).



STUDY OF THE NEUROINVASIVENESS OF THE RABIES VIRUS IN SAMPLES OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF CATTLE

Centoamore NHF¹, Mesquita LP¹, Maiorka PC¹, Asano KM², Achkar SM², Scheffer KC², Fahl WO², Iamamoto K², Mori E²

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

² Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

Correspondente: Natalia H. F. Centoamore

E-mail: natalia.centoamore@gmail.com

Rabies is an acute encephalomyelitis caused by a virus belonging to the Mononegavirales order, Rhabdoviridae family, Lyssavirus genus and Rabies virus (RABV) species. It is a single-stranded RNA virus, negative sense that affects all species of mammals. The definitive diagnosis is obtained by laboratory techniques. Direct fluorescent antibody test (dFAT) is a rapid screening, considered the gold standard by WHO and OIE, as it has high diagnostic sensitivity and specificity. However, it's recommended the mouse inoculation test (MIT) or rabies tissue culture infection test (RTCIT) as a confirmatory test. Once RABV does not infect all central nervous system (CNS) structures uniformly, the detection of this agent may have varying results. Some situations require the development and implementation of alternative methods such as RT-PCR, RT-qPCR and immunohistochemistry (IHC), which have advantages and showed very promising results. Therefore, CNS structures [thalamus, cortex, hippocampus, cerebellum, brainstem (medulla, pons and midbrain) and cervical cord] from 127 cattle were selected from the Rabies Diagnostics Section of the Instituto Pasteur during the period March 2015 to April 2016. The different CNS structures were identified and aliquots were separated for carrying out the viral identification techniques, totalizing 689 structures. The viral presence was observed by dFAT and confirmed by both the MIT and the RTCIT. The distribution of the virus by different portions of the CNS was observed by dFAT, IHC and RT-PCR for detection of the N gene in

40 animals considered positive. The 40 positive cattle in the dFAT confirmed their positivity on IHC and MIT, with an agreement of 100% of the results. However there was a difference from the viral isolation since the 38 positive animals tested in both techniques, three were negative for the presence of RABV in RTCIT indicating an agreement of 92.1% (35/38) when compared to MIT. The dFAT, in general, showed no disparity among the fragments relative to their positivity, however, a difference was observed when analyzing the fluorescence intensity between the fragments. When compared IHC and dFAT presented similar results, although the IHC has presented a 100% positivity in the fragments (209/209) and 99.51% in dFAT (205/206). RT-PCR showed positivity of 92.5% (37/40). In conclusion, the preliminary results suggest that there is variability in the intensity of virus distribution in different parts of the CNS (neuroinvasiveness patterns) in cattle. This fact could affect the results obtained in the diagnosis of rabies routine. Subsequent studies with analysis of neurovirulence and measurement of viral load with RT-qPCR can corroborate to these findings.

Financial support: FAPESP Research 2015/17807-0.



TAXA DE MORTALIDADE DA RAIVA EM HERBÍVOROS DOMÉSTICOS ATENDIDOS PELA ADAB EM PROPRIEDADES FOCO NO ESTADO DA BAHIA NO PERÍODO DE 2006 A 2015

AlvesJNM¹; Mendonça FF¹; Ribas JRL¹; Gama ABT²; Vitor G²; Carvalho FL³.

¹ Fiscal Estadual Agropecuário;

² Estagiário;

³ Auxiliar de fiscalização Agência de Defesa Agropecuária da Bahia Salvador Bahia Brasil

Correspondente: Jose Neder Moreira Alves

E-mail: joseneder.moreira@adab.ba.gov.br

A raiva é uma encefalite viral com alto potencial zoonótico e de grande importância para a Saúde Pública por ter, de acordo com a Organização Mundial de Saúde, uma letalidade de 100%. No meio pecuário causa prejuízos da ordem de US\$45 milhões para o Brasil por ano, portanto, são sempre importantes estudos que aumentem os conhecimentos epidemiológicos dessa enfermidade. O objetivo deste trabalho é determinar a taxa de mortalidade em propriedades foco de raiva em herbívoros domésticos no estado da Bahia. O estudo foi feito através dos Formulários de Investigação de Doença-Inicial (Form-In) arquivados no Laboratório de Sanidade Animal (LADESA) da Agência de Defesa Sanitária Animal do Estado da Bahia (ADAB). Foi realizado levantamento dos casos confirmados pelo Laboratório Central de Saúde Pública Professor Gonçalo Moniz (LACEN), e dos animais existentes na propriedade foco no período de 2006 a 2015, determinando assim a taxa de mortalidade. Os resultados demonstraram 730 animais mortos em propriedades foco em uma população existente de 45.492 herbívoros domésticos. Destes animais mortos 456 amostras foram analisadas com diagnóstico laboratorial positivo para raiva e 274 foram mortes vinculadas ao caso positivo. A taxa de mortalidade total no período de 2006 a 2015 foi em média 1,6%. Observou-se que no ano de 2007 houve a maior taxa de mortalidade (3,2%) e em 2011 a menor taxa (0,7%), oscilando entre os anos no período de estudo. Pode-se concluir que a taxa de mortalidade é baixa para a enfermidade mesmo tendo uma letalidade alta.

THE ECTODOMAIN OF RABIES VIRUS G DETERMINES DENDRITIC CELLS ACTIVATION WHILE THE CYTOPLASMIC TAIL THE LEVEL OF G EXPRESSION

Zhen Fu, Huang J, Gnanadurai C, Huang Y, Zhang Y, Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, University of Georgia Athens, GA ³⁰⁶⁰². USA

Corresponding: Zhen Fu

E-mail: zhenfu@uga.edu

Previous studies showed that it is the glycoprotein (G) that determine the level of G expression and consequently its ability to activate dendritic cells (DCs). In the present study, attempts were made to delineate the domain(s) on the G that are involved in DC activation and G expression. Recombinant chimeric RABV viruses were constructed by exchanging each of the structural domains of the G, i.e. signal peptide, ectodomain, transmembrane, and cytoplasmic tail between wild-type SHBRV and laboratory-adapted B2C viruses. Characterization of these RABVs shows that the viruses containing SHBRV signal peptide, transmembrane domain and cytoplasmic tails are capable of growing in high titers by efficient cell-to-cell spread, whereas virus containing SHBRV ectodomain is inefficient in cell-to-cell spread and grows poorly. Viruses containing SHBRV signal peptide and transmembrane domain are efficient in DC activation. On the other hand, viruses containing SHBRV ectodomain or cytoplasmic tail are inefficient in DC activation. However, the level of G expression is regulated solely by the cytoplasmic tail, indicating the level of G expression and DCs activation are two separable functions. Together, our results demonstrate that the G mediates DC activation while its cytoplasmic tail determines the level of G expression.



UTILIZAÇÃO DO GEORREFERENCIAMENTO DE ABRIGOS DE MORCEGOS E PROPRIEDADES RURAIS COMO FERRAMENTA PARA AÇÕES DE VIGILÂNCIA E PREVENÇÃO DA RAIVA DOS HERBÍVOROS NO ESTADO DO PARANÁ

Vieira RGV¹. Dias RG².

¹ Fiscal de Defesa Agropecuária – Coordenador do Programa de Vigilância e Prevenção de Síndromes Nervosas Transmissíveis em Animais de Produção.

² Fiscal de Defesa Agropecuária – Gerente de Saúde Animal Agência de Defesa Agropecuária do Paraná - Adaptar Gerência de Saúde Animal – GSA

Correspondente: Ricardo Vieira

E-mail: ricardovet76@gmail.com

O Sistema de Defesa Sanitária Animal – SDSA tem por finalidade abrigar os cadastros de propriedades, empresas, médicos veterinários e outras entidades envolvidas com animais de produção de interesse da defesa agropecuária do estado do Paraná. A partir do ano de 2014 os cadastros de abrigos de morcegos passaram a ser inseridos no SDSA. As informações de localização, tipo de abrigo, georreferenciamento, revisões, capturas entre outras passaram a fazer parte do banco de dados do SDSA. Posteriormente, em conjunto com o contínuo georreferenciamento das propriedades rurais cadastradas, foram implementadas ferramentas no SDSA que permitiram a utilização de recursos gráficos para o dimensionamento de perímetros focais. Com esse recurso se tornou possível quantificar e identificar as propriedades e abrigos localizados na zona perifocal de propriedades foco. A inclusão dos cadastros de abrigos no SDSA facilitou o acesso interativo de todos os cadastros e o seu abastecimento com informações atualizadas, principalmente em relação às revisões e capturas de morcegos hematófagos. A interação entre os dados dos abrigos e das propriedades permitiu que apenas com a inserção dos dados de georreferenciamento de uma propriedade foco seja possível estabelecer a área perifocal de 12 Km em um mapa do estado do Paraná com a identificação de todas as propriedades com animais e dos abrigos de morcegos existentes no

perímetro delineado. O SDSA automaticamente elabora de uma listagem das propriedades contendo nome dos proprietários, quantitativo de animais e a finalidade da exploração. Recursos adicionais permitem acesso direto aos dados cadastrais das propriedades e eventuais abrigos de morcegos bem como a sua visualização por meio de interface com site Google Maps ®. A implantação desses recursos no SDSA e a sua utilização têm otimizado o planejamento e facilitado a execução das atividades de vigilância e atendimento a focos de raiva dos herbívoros no estado do Paraná. Em 2016, o georreferenciamento foi utilizado na execução de atividades de perifoco dos 32 casos de raiva ocorridos no Paraná, o que resultou na vigilância em mais de 2000 propriedades rurais. A utilização do georreferenciamento de abrigos e propriedades tem facilitado as ações dos PNCRH por parte da Adapar tanto nas ações de vigilância quanto na sua análise posterior, e permitindo o constante aprimoramento das atividades de controle e vigilância da raiva dos herbívoros.

Palavras-Chave: georreferenciamento, abrigos, propriedades.



VALIDATION OF THE RAPID FLUORESCENT FOCUS INHIBITION TEST TO MEASURE RABIES VIRUS NEUTRALIZING ANTIBODIES

Timiryasova TM, Luo P, Zheng L, Singer A, Zedar R, Garg S, Brown M, Hu BT

Sanofi Pasteur, Discovery Drive, Swiftwater, PA, 18370, USA

Corresponding: Tatyana Timiryasova

E-mail: tatyana.timiryasova@sanofipasteur.com

Immunological evaluation of vaccines developed to protect against rabies infection requires reliable serological test methods. The cell-based rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) is considered the “gold standard” assay to measure levels of rabies virus neutralizing antibody (RVNA) in serum samples. Here we present the validation of the RFFIT performed in 8-well LabTek chamber slides utilizing BHK-21 cells and CVS-11 rabies virus. Test samples are 2-fold serially diluted using an automated microplate pipetting system as compared to the conventional 5-fold manual titration. Additionally, a cell imaging reader is used to scan slides, providing traceability and permanent record of the raw data meeting Good Clinical Laboratory Practice requirements. The reader reduces subjectivity by providing a consistent method of digital image capture, allowing for more accurate determination of the RVNA titers. The RFFIT was validated in accordance with the International Conference on Harmonization guidelines by taking into account the limitations and variability of cell-based virus neutralization assays. A design of experiment was applied to simultaneously evaluate the assay precision, dilutability, and LLOQ by testing a randomized and coded panel of human serum samples in triplicate in three different independent assay runs. The calculated percent geometric coefficients of variation of the repeatability and intermediate precision were 15.7% and 19.8%, respectively. A dose-dependent inhibition in RVNA titers was observed for 100% (7/7) of the tested samples when competed with various concentrations of the homologous competitor (inactivated Pitman-Moore rabies virus) to the rabies virus versus no inhibition with the heterologous competitor

(inactivated vesicular stomatitis virus), demonstrating suitable specificity of the RFFIT. Additionally, the RFFIT selectively and accurately measures specific RVNA in the presence of icteric, hemolytic, and lipemic serum matrices. The assay accuracy and linearity was demonstrated by testing the World Health Organization (WHO)-1 and WHO-2 Standard Rabies Immune Globulins (SRIGs) at 7 different concentrations each. More than 80% of the samples for both SRIGs were within 70-130% of the expected values, and linear regression analysis showed that the coefficients of determination were 1.00 and 0.99 with slopes of 1.10 and 1.08 for WHO-1 and WHO-2 SRIGs, respectively. Assay dilutability illustrated that the RFFIT measures levels of RVNA which are directly proportional to the concentrations of RVNA in the sample down to the assay LLOQ of 0.2 IU/mL. In conclusion, we have demonstrated that the RFFIT method as performed in our laboratory is precise, accurate, linear, specific, and robust.

Acknowledgments: The authors wish to thank the rabies laboratory testing team within Global Clinical Immunology, Sanofi Pasteur, Inc., Swiftwater, for all their work in supporting the validation of the assay. The authors would like to thank Tim Voloshen for review of the abstract. Additional thanks go to Dr. Susan Moore at the Kansas State Veterinary Diagnostic Laboratory for kindly providing inactivated vesicular stomatitis virus.

Financial Support: This study was conducted at Sanofi Pasteur Inc., Swiftwater, USA.



VIGILÂNCIA DE CÃES E GATOS CONTACTANTES DE MORCEGOS EM CAMPINAS-SP

Rodrigues RCA¹, De Lucca T¹, Nitsche A¹, De Nadai DV¹, Castagna CL¹

⁽¹⁾ Unidade de Vigilância de Zoonoses - Prefeitura Municipal de Campinas, Campinas - SP, Brasil

Correspondente: Ricardo Conde Alves Rodrigues

E-mail: rconde72@gmail.com

Em Campinas, interior do Estado de São Paulo, o vírus rábico tem circulado entre morcegos. Entre 2004 e 2015, o município registrou 95 morcegos não hematófagos com raiva. Os morcegos mantêm a circulação do vírus entre suas populações e podem transmiti-lo aos animais domésticos de estimação. Em 2014 e 2015 este município registrou casos de raiva em um gato e em um cão, ambos com variantes virais de morcegos. No Brasil, há 3 registros de transmissão secundária de raiva aos humanos; nestas situações, um cão/gato infectado pelo vírus proveniente de morcego desenvolve a doença e a transmite ao humano. Tendo em vista a situação epidemiológica da raiva em Campinas, a vigilância em saúde tem focado suas ações na vigilância passiva de morcegos, na qual animais encontrados em situações não habituais são recolhidos pela Unidade de Vigilância de Zoonoses (UVZ) e encaminhados para análise laboratorial. Em muitas ocorrências, cães e gatos são caracterizados como contactantes de morcegos, ou porque foram vistos em contato com o morcego, ou pela impossibilidade de descartar este contato. Nestas ocasiões, o animal contactante recebe doses de vacina contra a raiva e o responsável pelo animal assina um Termo de Responsabilidade, assumindo compromisso de mantê-lo em isolamento e observação até a emissão do laudo negativo para raiva do morcego; quando o morcego apresenta resultado positivo, impossibilitado ou quando não foi possível o seu recolhimento para análise laboratorial, os animais contactantes permanecem em observação por 6 meses. Este trabalho descreve as ações de vigilância passiva de morcegos não hematófagos e o monitoramento de animais contactantes em Campinas, em 2015. Neste ano,

563 morcegos foram recolhidos (87,9% insetívoros, 5,9% frugívoros, 5,5% nectarívoros e 0,35% onívoros). Na região Norte do município foram recolhidos 42% dos morcegos, seguido das regiões Leste (33%), Sul (11%), Sudoeste (7%) e Noroeste (7%). Seis morcegos apresentaram resultado positivo para raiva (1,03% de positividade), quatro do gênero *Artibeus*, um do gênero *Nyctinomops* e um do gênero *Myotis*; 24 morcegos apresentaram resultado impossibilitado. Foram caracterizados como contactantes dos morcegos 468 animais (273 cães e 195 gatos). Destes, 358 tiveram contato com morcegos com resultado negativo para raiva e 101 com morcegos com resultado impossibilitado ou que não foi possível o recolhimento do exemplar. Nove cães tiveram contato com morcegos positivos para raiva. A UVZ realizou observação de todos os contactantes e aplicou 824 doses de vacina. Em nenhum caso o animal contactante evoluiu para raiva. O protocolo para contactantes funcionou como importante ferramenta de prevenção à transmissão secundária da raiva, além de preservar a vida destes animais. Como desafio, cabe ao município sensibilizar a população para o papel dos morcegos na cadeia de transmissão da raiva e ampliar a vigilância passiva de morcegos, estendendo-a para áreas com poucos registros de recolhimento.



WILDLIFE MAMMALS INCIDENTS - A URBAN RISK?

Witt, AA, Campos, A; Ribeiro, KL; Rodrigues, JLC; Tartarotti, A

Centro Estadual de Vigilância em Saúde, Secretaria de Saúde Estado do Rio Grande do Sul

Correspondente: André Alberto Witt

E-mail: andre-witt@saude.rs.gov.br

Rabies is a viral zoonosis, which is characterized as an acute and progressive lethal encephalitis. All mammals are susceptible to rabies, except synanthropic rodents. Transmission occur by the inoculation of virus present in the saliva and secretions from infected animal, usually by biting, more rarely by scratch and licking of mucous membranes (BRAZIL, 2009). The number of cases of human rabies transmitted by dogs decreased significantly between the years 2000-2009, with a significant change in the epidemiology of the disease (Wada et al., 2011). Because of this new scenario, the Health Surveillance began to investigate more closely accidents with other animal species. Recent studies in Brazil show a growing involvement of some species of wild mammals in rabies cycle, especially canines and primates (Kobayashi et al, 2007; Kotait et al, 2007; Carnieli et al, 2009; Carnieli et al, 2013 ; George et al, 2010). By analyzing the information obtained from the records of human rabies postexposure prophylactics from System for Notifiable Diseases (SINAN), between the years 2007 to June 2016, we found the record of 1092 accidents with bats, 444 primate and 126 with foxes, totaling 1663 incidents with wild mammals in Rio Grande do Sul. Most of these incidents occurred in urban areas (70%), which shows an unusual situation that deserves thorough investigation of the facts. In Rio Grande do Sul little is known about the circulation of the rabies virus in wild animals due to lack of specific studies on the subject to date and the fact that testing of wild animals for the rabies virus is limited to animals involved in exposure incidents with people or domestic animals. Every accident with wild mammal is considered serious and requires complete prophylaxis for rabies, including human rabies immune globulin (HRIG) and vaccine, as

recommended by the Ministry of Health (2014). We emphasize the need to improve the information with the SINAN, since it is not possible to distinguish the species that cause the diseases, which represents an improvement for the development of accident prevention strategies. In addition we must also promote the development of new lines of study that address the synanthropic animal biology and ecology, in order to understand the reasons and facts that have led to the increase in the number of rabies postexposure prophylaxis in urban areas.





SESSÃO DE PÔSTER II

POSTER SESSION II

SESIÓN POSTER II



RITA 2016

Belém - Pará - Brasil

A MODIFIED DELPHI APPROACH TO OUTLINE STRATEGIES FOR RACCOON RABIES ELIMINATION

Chipman RB ¹, Gilbert AT ², Hale RL¹; Nelson KM¹, Algeo TP ¹, Kirby JK ¹, Shwiff SA ², Elmore SA ^{2,3}, Rupprecht CE ⁴ and Slate D ¹

¹ United States Department of Agriculture, Wildlife Services, National Rabies Management Program, Concord, New Hampshire, USA

² United States Department of Agriculture, Wildlife Services National Wildlife Research Center, Fort Collins, Colorado, USA¹

³ Department of Fish, Wildlife, and Conservation Biology, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, USA

⁴ The Wistar Institute, Philadelphia, Pennsylvania, USA

Corresponding: Richard B. Chipman

E-mail: richard.b.chipman@aphis.usda.gov

The U.S. Department of Agriculture's Wildlife Services National Rabies Management Program (NRMP) has worked collaboratively to prevent the appreciable spread of raccoon rabies to new geographical areas through the strategic annual application of 6-9 million doses of oral rabies vaccine in 15 eastern states. During 2011, a modified DELPHI meeting, composed of wildlife management, rabies, and ecologic and economic modeling experts from agencies, universities, NGOs and the private sector, including experts from Canada, established inputs critical to macro-economic modeling for characterizing costs and benefits of intervention to prevent the raccoon rabies virus variant from spreading to new areas in the U.S. The total projected cost of raccoon rabies spreading west in the U.S., in the absence of intervention, was \$1.1 billion over a 22 year spread horizon. A similar panel of experts was reconvened during March 2016 to provide guidance on short and long term raccoon rabies elimination strategies, as well as to identify research gaps and effective communication messages. A group decision-making process was again used to explore risk-based strategic approaches to achieve raccoon rabies elimination in the U.S. Three oral rabies vaccination (ORV) scenarios were evaluated: 1) short term landscape strategies shown in 3-5 year increments, based on \$2.5 million in funds dedicated to elimination from the current

NRMP budget; 2) maximize progress toward elimination, shown in 5 year increments, based on a 50% increase in the current budget plus the above \$2.5 million (\$12.5 million total); 3) raccoon rabies elimination in 5 year increments over a 30 year horizon, with no budget limitations. The outputs from the three specific scenario evaluations provided spatio-temporal details for benefits and cost of raccoon rabies and its elimination from the U.S. These models should, in turn, enhance the ability to make science-based decisions to achieve progress toward eliminating raccoon rabies and its attendant high costs, with significant impacts to humans, domestic animals and wildlife in a One Health context.



AÇÕES DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA RAIVA DIANTE DE CASO POSITIVO EM FELINO NO MUNICÍPIO DE CAMPINAS, SP, BRASIL

Tomass TLB¹, Rodrigues RCA¹, Nitsche A¹, von Zuben APB²

¹ Unidade de Vigilância de Zoonoses, Secretaria Municipal de Saúde, Campinas, SP.

² Departamento de Vigilância em Saúde, Secretaria Municipal de Saúde, Campinas, SP.

Correspondente: Tosca de Lucca Benini Tomass Rezende

E-mail: tosca_delucca@yahoo.com.br

Campinas registrou seu último caso autóctone de raiva humana, canina e felina em 1981, 1982 e 1999, respectivamente; este último pela variante de morcego. Até que em setembro de 2014, foi confirmado raiva em um gato através da prova biológica (variante viral de *Nyctinomops* sp), após resultado anterior negativo no exame de imunofluorescência direta. Na investigação epidemiológica, verificou-se tratar de um gato semi-domiciliado que compartilhava o ambiente com nove gatos, também sem histórico vacinal para raiva. Dentre os animais contactantes, 8 foram microchipados, castrados e vacinados contra raiva nos dias 0,7 e 30 e mantidos em quarentena de 180 dias, conforme recomendações da NT19/2012–CGDT/DEVEP/SVS/MS. Com relação ao quadro clínico, a cuidadora refere que o gato desapareceu por três dias e foi encontrado no fundo de seu quintal, prostrado e em decúbito lateral, ocasião em que o levou ao serviço de proteção animal do município. Segundo o veterinário que prestou atendimento, o animal deu entrada em estado semi-comatoso e veio a óbito no dia seguinte. Foi realizada necropsia e encontrado corpo estranho em região gástrica (saco plástico). Além destas ações, outras foram desenvolvidas em uma grande área delimitada, que se estendeu para bairros limítrofes de dois municípios vizinhos, utilizando os seguintes critérios: densidade populacional humana; possíveis barreiras para o deslocamento de cães e gatos; existência de fonte de alimentos favoráveis aos deslocamentos dos animais e mudança no padrão de ocupação do solo. As ações desencadeadas na área delimitada foram: visita casa a casa

orientando os moradores a respeito da raiva; levantamento de dados sobre a população canina e felina; vacinação dos animais acima de 3 meses de idade e a disponibilização de um posto fixo de vacinação para animais oriundos de áreas adjacentes à área delimitada. As ações complementares incluíram a ampla divulgação do caso de raiva felina à imprensa, visitas educativas as clínicas veterinárias e escolas da região e envio de boletim epidemiológico, através do CRMV, aos veterinários do município. Em Campinas, foram visitados 1.403 imóveis, com pendência de 16% (fechados e recusas). Dos cães e gatos encontrados, 45,4% e 24,3% receberam a vacina antirrábica nos últimos 12 meses, respectivamente. Ao término das ações, a cobertura vacinal canina atingida foi de 83,2% e a felina de 61,9%. Foi realizada avaliação sorológica em 6 animais e verificou-se títulos superiores a 0,5 UI/ml na coleta de sangue realizada após 30 dias da primeira dose de vacina. Após 6 meses os animais mantiveram títulos superiores a 0,5 UI/ml. Em 2015, é diagnosticado um cão com raiva, também por variante de morcego, em outra região do município. A alteração no perfil epidemiológico da raiva, especialmente no Estado de São Paulo, com registro crescente de morcegos positivos em área urbana e de casos secundários em cães e gatos, torna-se mais uma questão emergente para os serviços de saúde pública.



AÇÕES INTEGRADAS NO CONTROLE DA RAIVA SILVESTRE NO ESTADO DO CEARÁ/BRASIL

Duarte NFH^{1,2,10}, Oliveira WF⁵, Gaio FC⁵, Lima FMG¹, Negreiros JA¹, Ibiapina MMM⁶, Almeida CP³, Duarte BH⁴, Santos LJM⁴, Varela RH², Lima PIC², Garcia MHO^{1,10}, Oliveira RP¹, Araújo DB⁷, Rocha SM⁹, Montebello LR⁹, Favoretto SR^{7,8}, Heukelbach J²

¹ Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

² Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

³ Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

⁴ Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, Brasil

⁵ Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis, Fortaleza, CE, Brasil

⁶ Secretaria Municipal de Saúde, Barroquinha, CE, Brasil

⁷ Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

⁸ Instituto Pasteur de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

⁹ Ministério da Saúde, Brasília, BR, Brasil

¹⁰ Conselho Regional de Medicina Veterinária, Fortaleza, CE, Brasil.

Correspondente Lucia Regina Montebello Pereira Dourado

E-mail: lucia.montebello@gmail.com / lucia.montebello@saude.gov.br

A raiva mantida e transmitida pela fauna silvestre do Estado do Ceará apresenta um perfil diferenciado em relação aos demais estados brasileiros. Os constantes registros de casos humanos transmitidos por esses animais têm causado preocupação no mundo. O controle da raiva silvestre vem evoluindo com a realização de ações como: a implantação do projeto “A Saúde e a Educação no Controle da Raiva Silvestre”, desenvolvido pela Secretaria da Saúde (SESA) em parceria com a Secretaria da Educação (SEDUC), desde 2014. Além disso, a integração entre SESA e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Renováveis (IBAMA) tem proporcionado a sensibilização da população para entrega voluntária de animais silvestres criados em cativeiro. Este estudo, iniciado em 2010, em parceria da SESA e IBAMA no Estado do Ceará têm como objetivo analisar os mamíferos silvestres recebidos pelo IBAMA que estavam sendo mantidos em cativeiro. Além de desenvolver ações de orientação à população quanto ao risco de transmissão de doenças veiculadas pela fauna silvestre e a divulgação da Legislação que prevê sanções penais e administrativas aplicadas para condutas e atividades lesivas para o

ambiente. Do início até julho de 2016, o IBAMA recebeu 1.276 mamíferos silvestres oriundos da criação em cativeiro, e grande parte destes entregues espontaneamente pela população após ações de orientação proporcionadas pelo programa, destacando-se para a quantidade de animais recebidos das espécies: *Callithrix jacchus* (sagui) 336 (26,33%); de canídeos silvestres 59 (4,62%) e de *Procyon cancrivorus* (Guaxinim) 47 (3,68%) que são consideradas no Estado como as de maior importância para a saúde pública, e risco de transmissão da raiva. De acordo com relatórios de diagnóstico laboratorial da raiva do (LACEN) e CCZ do Crato, no período do estudo houve 261 amostras de mamíferos positivas para a raiva no estado, sendo 47(18%) de canídeos silvestres, 29(11,1%) de saguis e três (1,15%) de guaxinins. Ressalte-se que, nos últimos 10 anos, o Sagui foi responsável por quatro dos cinco casos de raiva humana do Ceará, ou seja, 80% da transmissão dos casos humanos no período. Desde a década de 90, o maior intervalo sem registro de casos de raiva humana no Estado foi de dois anos, 2006 e 2007. O último caso de raiva humana no Ceará aconteceu em 2012, e a vítima foi uma criança agredida por sagui ao tentar capturá-lo. Nota-se, portanto, um novo cenário epidemiológico da raiva humana no Estado, já que há quatro anos não se registra novos casos. Observou-se ainda que os casos humanos com transmissão por sagui, desde 2005, resultaram da procura tardia por assistência médica, evidenciando a desinformação das pessoas sobre o risco de contrair raiva. Assim, as ações integradas entre instituições, sobre a prevenção da doença, bem como a sensibilização da população para inibir a criação ilegal de animais silvestres em cativeiro, sugerem resultados satisfatórios no controle da raiva humana no Estado do Ceará.



ACOMPANHAMENTO PELO SERVIÇO VETERINÁRIO OFICIAL DE FOCO DE RAIVA EM HERBÍVOROS EM FORTALEZA, CEARÁ

Loureiro AM¹, Gonçalves AGCM¹, Silva AWL¹, Moreno JO¹, Neto JAS¹, Filho FCC¹, Neto PCO¹, Neto JLS¹, Castro SG¹, Júnior FAS².

¹ Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará - ADAGRI, Brasil.

² Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará – LACEN, Brasil.

Correspondente Avatar Martins Loureiro

E-mail: avatar.loureiro@adagri.ce.gov.br

A Raiva é uma zoonose de importância significativa na saúde pública, a qual acarreta prejuízos econômicos aos pecuaristas. É uma doença viral de notificação obrigatória no Brasil, com aproximadamente 100% de letalidade e que apresenta sintomatologia nervosa, como paralisia dos membros, movimentos de pedagem, agressividade, convulsões, dentre outros. Os morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* são os principais responsáveis pela manutenção do vírus no ambiente rural, através de espoliações em animais de produção. No município de Fortaleza-CE, no dia 1º de julho de 2015, a Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI), recebeu notificação de criador informando que um bovino, ao retornar do pastejo não se levantou mais e que sua cabeça estava fixa para o lado esquerdo. O proprietário relatou ainda que os demais animais da propriedade e os da região não apresentavam espoliação por morcego e acrescentou que nunca visualizou morcegos na propriedade, porém já havia visto animais silvestres na região. Fiscais Estaduais Agropecuários foram até a propriedade investigar a notificação e, segundo anamnese e sinais clínicos verificados, observaram alteração de comportamento, paralisia flácida dos membros anteriores e posteriores, depressão, ataxia e não havia sinais de espoliação por morcegos. Adicionalmente, a propriedade faz divisa com plantações desconhecidas e não possui manejo adequado no que se refere aos aspectos higiênico, sanitário e nutricional. No dia seguinte o animal veio a óbito e, sendo assim, o Fiscal

retornou à propriedade para realizar a coleta do Sistema Nervoso Central do bovino. O material foi refrigerado e os devidos Formulários Epidemiológicos padronizados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) foram preenchidos. Posteriormente, a amostra foi encaminhada ao Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN) para análise. As metodologias empregadas para diagnóstico de Raiva foram a Imunofluorescência Direta (IFD) e a Prova Biológica, ambas positivas para o referido material. Após resultado da técnica de IFD, o Fiscal retornou a propriedade para informar o resultado positivo da amostra ao proprietário e realizar as devidas orientações sanitárias. Tendo em vista que o animal acometido e os outros animais da propriedade não apresentavam espoliações, sugere-se que estudos epidemiológicos adicionais sejam realizados na região e que a vigilância seja fortalecida no Estado, para verificar qual o real transmissor do vírus da Raiva ao bovino, bem como o direcionamento de ações de profilaxia e controle.



ALCOHOL-BASED TISSUE FIXATION AS AN ALTERNATIVE TO HISTOPATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES OF BOVINE RABIES

Sá RSC, Machado FMC, Dias ACL, Trujillo JG, Oliveira Jr CA, Riet-Correa G, Cerqueira VD, Bezerra Jr PS

Laboratório de Patologia Animal, Programa de Pós-graduação em Saúde Animal na Amazônia, Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Av. dos Universitários, s/n, Jaderlândia, Castanhal, PA.

Corresponding: Pedro Soares Bezerra Júnior

E-mail: psbezerrajunior@gmail.com

Rabies is an infectious disease that affects animals and humans. Standard diagnostic methods are direct fluorescent antibody tests and mouse inoculation test with refrigerated nervous system samples. Conservation and transport of these samples in tropical regions of difficult access are constant challenges. Immunohistochemical diagnosis (IHC) in formalin fixed tissues is an alternative. However, access to formalin became restricted due its toxic and carcinogenic effects. The purchase of formalin in the inner cities of Brazil is particularly difficult. Furthermore, formaldehyde fixation limits IHC and molecular tests. In this study, in order to search for viral antigens by IHC, two cases of bovine rabies had tissue fixed in formalin and in an alcohol-based fixative. In histopathology of both cases there was mainly mild to moderate multifocal lymphocytic infiltrate in central nervous system, ganglia, adrenal and pituitary. Alcohol-based fixative provided tissue morphology comparable to formalin. There were viral antigens in both cattle. The distribution of immunostaining was similar in one of the bovines, varying only in intensity. In other bovine, there was immunostaining only in spinal cord collected in alcohol-based fixative. This bovine had the clinical course shortened that may have compromised immunostaining of tissues in formalin. These results suggest a good preservation of viral antigens in alcohol-based fixation. This fixation does not require antigen retrieval. Although tested in a limited number of cases, alcohol-based fixation is a promising alternative to histopathologic and immunohistochemical studies of bovine rabies.

AN EXTENDED VALIDATION OF THE NEW PAN- LYSSAVIRUS TAQMAN REAL-TIME RT-PCR ASSAY AT MULTIPLE LABORATORIES FOR THE DIAGNOSIS OF RABIES

Wadhwa A, Wilkins K, Condori RE, Gao J, Wallace R, Reynolds M, Olson V, Li Y

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA.

Corresponding: Yu Li

E-mail: yuli@cdc.gov

A pan-lyssavirus Taqman real-time RT-PCR assay (LN34) has been developed, validated, and used for diagnosis of rabies from clinical samples at CDC. Assay LN34 significantly improved the nucleic acid based rabies diagnostic process at CDC during the last year, with 100% concordance on samples positive for rabies by direct fluorescent antibody (DFA) test, currently the golden standard for rabies diagnostics. Assay LN34 used a novel approach with modified nucleotides for the Taqman probe synthesis and is able to utilize the highly conserved lead region and a portion of N gene of lyssaviruses genomic sequences to achieve assay's sensitivity and specificity across highly variable rabies virus (RABV) variants and other lyssavirus species. The assay LN34 was validated with over 400 RABV variants and 13 species of other lyssaviruses in the CDC repository, ANSES panels, clinical and field samples. Currently, we are running a 6 month pilot program to further validate LN34: 8 US state public health laboratories (SPHLs) and 5 international laboratories from North America, South America and Europe participated the pilot program and will test both archived rabies positive samples and current suspected animal samples of each laboratory. We are able to directly transfer LN34 by providing detailed protocols; assay performance is monitored by using a quantified artificial positive control for LN34 and beta-actin control for sample integrity. Most of the participating laboratories can run the assays directly following the protocols

and have tested hundreds of clinical samples in parallel with the DFA test. Over 500 animal samples have been tested by LN34 in multiple laboratories which allows us to evaluate the practical standards of using LN34 for rabies diagnostics, and develop algorithms to address the potential false positive results during sample processing and assay set-up as LN34 demonstrated higher sensitivities compared to that of DFA. Rapid sample collection and storage protocols are also developed and being validated for LN34 which use a mixed brain stem smearing of samples with preserving buffers which reduces the logistic burdens in field condition. The extended validation data has showed that assay LN34 can significantly improve the rabies diagnostics process in the rabies diagnostic reference center, local SPHLs, and laboratories with limited resources.



ANALYSIS OF ACCIDENTS WITH PRIMATES IN THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL, 2007-2016

Witt, AA; Campos, A¹; Wagner, PC²; Ribeiro, K¹; Rodrigues, JLC¹; Tartarotti, A¹

¹ Centro Estadual de Vigilância em Saúde, Secretaria de Saúde Estado do Rio Grande do Sul

² Analista Ambiental – IBAMA/Rio Grande do Sul/Brasil

Corresponding: André Alberto Witt

E-mail: andre-witt@saude.rs.gov.br

In Brazil, recent studies have shown notably the involvement of some species of wild mammals in rabies cycle, especially canines and primates (Kobayashi et al., 2007, Kotait et al., 2007, Carnieli et al, 2009; Carnieli et al ., 2013; George et al, 2010). Currently, primates are the third most frequent order involved with the transmission of rabies virus to humans in Brazil (Araujo et al., 2014), highlighting the *Cebus* and *Callithrix* genus. Two situations contribute to this greatly: these genus are among the most affected by trafficking for the pet trade, and the adaptability of different species of both genera colonizing disturbed portions of forests in urban or peri-urban areas, facilitating contact between specimens and humans. Additionally to the repeated practice of providing food to wild animals, it results in a high potential for aggression. In Rio Grande do Sul, due to the lack of detailed studies on the subject to date, little is known about the transmission cycle and maintenance of the rabies virus in wild animals. For this study we analyzed the data obtained from the Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), from Ministry of Health, between the years 2007 to 2016. In this period were recorded 444 accidents with primates in the state, distributed in 123 municipalities. The average annual accidents involving this species in the state, in the analyzed period was around 44 cases. There has been a tendency to increase the number of cases over the years. Among the municipalities that recorded the highest number of accidents in the period, the greatest numbers were: Farroupilha (n=06), Canela, Eldorado do Sul, São Sepé e Viamão (n=07), Bento Gonçalves e Santa Maria (n=08), Canoas, Novo Hamburgo e Santo

Ângelo (n=09); Santa Cruz do Sul (n=16), Torres (n=17), Passo Fundo (n=18), Caxias do Sul (n=21) and Porto Alegre (n=94). The analysis of the data in the selected period primarily identifies three types of situations, in order of importance: accidents with people feeding free-living primates, as in urban areas or in a preserved area; workplace accidents involving professionals who work with these animals, such as veterinarians and assistants (zoos, e.g.); and also accidents with people who have these animals as a pet in their homes. The quality of the information obtained and analyzed is limited and doesn't allow us to make clear the nature of this type of occurrence, nor the species involved in those accidents, which limits the epidemiological investigation. In this sense, we recommend improving the SINAN, in order to make it sensitive to accidents with wild animals, which certainly represents a improvement in rabies surveillance. In addition, we need to encouraging scientific research involving wild species found in urban areas and are directly involved in rabies cycle, in order to aprimorate the understanding of the maintenance and eco-epidemiology of the disease.



ANALYSIS OF BATS CAPTURED IN THE STATE OF PARANÁ (BRAZIL) BETWEEN 2009 AND 2014: SPECIES, LOCATION OF CAPTURE, BEHAVIOR

Gruber JGPF¹; Laurindo EE²; Barros Filho IR¹; Brandão APD³

¹ Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - Campus Curitiba.

² Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) - Serviço de Saúde Animal (SSA-PR) - Curitiba

³ Universidade de São Paulo (USP) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental aplicada às Zoonoses.

Corresponding: Ellen Elizabeth Laurindo

E-mail: ellen.laurindo@agricultura.gov.br

Bats are one of the most diversified group of mammals in the world, representing 22% of known mammalian species. These animals play an important role in the equilibrium of ecosystems, but its presence may result in undesirable interactions with humans and your pets, increasing the risk of transmitting diseases such as rabies, if the bat is infected. This study aimed to describe the species caught by the service of Paraná Agricultural Protection Agency in rural and urban areas of Paraná State, Brazil, from 2009 to 2014. They were captured 478 bats of which 78.2% were found in altered behavioral conditions (passive surveillance) and 21.8% in shelters review (active surveillance). Species identification was performed in 91.2% of bats submitted to the laboratory, belonging to 26 species in three families (Phyllostomidae, Vespertilionidae and Molossidae). In urban areas there was great dominance *Molossus* spp with 53.2%, followed by *Lasiurus* spp with 6.36% and *Artibeus* spp with 5.51% of subjects. The bats were captured in places like backyards, residential interior (in urban and rural areas), public roads, the teachings of institutions, churches, health centers, hospitals, shops and abandoned buildings. Municipalities which were more registered more shots of bats were Guarapuava (11.74%), Curitiba (5.66%) and Jacarezinho (4.61%). Most species was insectivorous and *Molossus* spp species and common vampire bat, predominated during the study period.

ANALYSIS OF RABIES VIRUS CIRCULATING IN BATS SPECIES IN NUEVO LEON MEXICO

Jaramillo-Reyna E, de la O-Cavazos ME, Hernández-Flores R, Treviño-Garza C, Valdez-Leal R, Bañuelos-Alvarez AH, Morales-Rubalcaba A, Zúñiga-Ramos MA and Aréchiga-Ceballos N

Corresponding: Efren Jaramillo

E-mail: ejrvirus@gmail.com

Bats accomplish for more than 1100 species worldwide and exist in all continents except Antarctica. Currently, in North America they are the main source of rabies transmission to humans. In the USA and Canada during 1995-2011, bats were the principal source of infection of most rabies human deaths. During 2014 and 2015 in the United States bats accounted for the second place of rabies cases registered. In addition, a human death was confirmed and identified as rabies virus associated with Silver-haired bat *Lasiurus noctivagus*. In Canada, during the same period of time bats accounted for the largest proportion of rabies cases. In Mexico 6 cases of human rabies transmitted by bats were recorded during 2010 to 2011. In Nuevo Leon they are 37 species documented of bats, including insectivores, frugivores, vampire bats and polinivores. The most common is *Tadarida brasiliensis mexicana*, the smallest of the free-tailed bats. There are other species such as: *Antrozous pallidus*, *Corynorhinus townsendii*, *Eumops perotis*, *Lasiurus cinereus*, *Lasiurus ega*, *Leptonycteris nivalis*, different species of *Myotis*, *Nycticeius humeralis*, among other. These species are necessary for maintaining the ecological balance and recently are common in urban areas of Nuevo Leon. This increase in the rate of contact with humans intensifies the risk to public health. The only record of human rabies transmitted by insectivorous bat in Nuevo Leon was in 1998 and it was associated with *Tadarida brasiliensis*. Despite its importance as rabies transmitters to humans and domestic animals, in most of the cases the reservoir species or the antigenic variant are not identified. This pattern is common in Latin America with 15 human rabies cases where

bats identifications has not been carried out the identification of bats species. Therefore, valuable information for epidemiological studies and reservoirs are lost. The aim of this work was to identify potential reservoir species of different lineages of rabies virus circulating in the State of Nuevo Leon. In this study, rabies viruses were isolated from brain samples of insectivorous bats from Nuevo Leon all of them had a contact history or aggression to humans. The genera identified by standard taxonomy were: *Lasiurus* spp. (6) and *Tadarida brasiliensis* (10). The fluorescent antigen test (FAT), antigenic characterization with a reduced monoclonal panel, RT-PCR and nucleotide sequencing of the semi-variable region of the nucleoprotein gene was performed. Virus isolates were characterized as AgV 9, AgV6 and atypical. These results reveal RABV circulating in bats with a history of aggression and human contact highlighting the need for increased rabies virus surveillance in our country in order to avoid possible transmission to humans. So far, this is the first work in Mexico that approaches the taxonomic identification of species of insectivorous bats and their relationship with rabies virus.



ANIMAL WELFARE: THE 3R'S APPLIED TO RABIES ACROSS THE YEARS

Servat A^{1,2,3,4}, Cliquet F^{1,2,3}

¹ French Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety (ANSES),

² WHO/OIE/EU reference laboratory for rabies,

³ Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife,

⁴ Technopôle Agricole et Vétérinaire

Corresponding: Alexandre Servat

E-mail: alexandre.servat@anses.fr

In France, a recent statistical survey revealed that about 1.8 million animals were used in 2014 for experimental and other scientific purposes. At European Union level (considering the 27 member states), this figure was about 12 million in 2008 and about 11.5 million in 2011. Generally, mice account for about 50 to 60%, and are the most commonly used species. The purpose of the experiments encompasses the biological studies of a fundamental nature, the research and development in the fields of human/veterinary medicine, the production and quality control of products for human/veterinary medicine, the toxicological/safety evaluation, the diagnosis of diseases... In 1959, Russel and Burch have developed the "humane" guidelines known as the "3R's rule" to promote the Reduction of the number of animal use in experimental procedures, the Refinement of the methodologies and the Replacement of the animal models. The concept has been progressively introduced in the regulations by various institutions. The research on rabies has resorted to, or still resorts to animals for diagnosis analyses, quality controls of vaccines, biological studies. Since the seventies, many alternative methods or methods that do not require the use of animals were described. During the past 30 years, in France, the rabies National Reference Laboratory (NRL), has adopted the Rapid Tissue Culture Infection Test (RTCIT) and the Fluorescent Antibody Virus Neutralization (FAVN) test to replace the Mouse Inoculation Test (MIT) and the Virus Neutralization test on mice, respectively. More recently the Serological

Potency Assay (SPA) has replaced the NIH test for potency estimation of rabies veterinary vaccines. The adoption of these in-vitro methods has led to substantial savings of animals, and a significant reduction of pain and distress of animals. National and international regulatory authorities tend to strengthen the legislation on animals used for experimental and other scientific purposes. Nevertheless, many laboratories still do not implement the alternative methods even though these tests were described or prescribed a long time ago. The limiting factors to refinement, reduction and replacement in rabies remain mostly the financial resources, the reluctance to new methods, the conservatism and the lack of harmonization between international regulators. Despite considerable progresses toward the animal welfare, the way from in-vivo to in-vitro in the rabies field is still long.



APLICATIVO DE COLETA E ENTRADA DE DADOS A PARTIR DE DISPOSITIVOS MÓVEIS PARA NOTIFICAÇÃO DE DOENÇAS NO CAMPO

¹-Gitti CB; ²-Lisboa PAV, ³-Silva JX, ⁴-Marino TB, ⁴-Nascimento GS

¹- Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da UFRRJ, Seropédica-RJ,

²- Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,

³- Laboratório de Geoprocessamento da UFRJ, Rio de Janeiro,

⁴- Laboratório de Geoprocessamento Aplicado da UFRRJ, Seropédica.

Corresponding: Clayton B Gitti

E-mail: cbgitti@yahoo.com.br

Uma das principais ferramentas para a vigilância epidemiológica das doenças é a “notificação”. O conhecimento da ocorrência das doenças, sua localização, frequência, espécies acometidas e demais informações são cruciais para os Serviços de Saúde Pública e Animal realizarem o planejamento de ação. A Raiva, assim como muitas doenças de importância na produção animal e saúde pública não são devidamente e integralmente notificadas por diferentes motivos, impedindo ações oficiais de prevenção e controle. As Zoonoses têm se configurado um desafio crescente na saúde pública. Encontramos várias formas de notificação compulsória ou voluntária quando vinculadas aos sistemas de vigilância em saúde humana, mas não verificamos a mesma centralidade e mecanismos semelhantes utilizados na medicina veterinária, principalmente com doenças e zoonoses que não requerem notificação obrigatória. Uma outra questão são as doenças que mesmo não sendo zoonoses tem impactos grandes na saúde dos animais que por falta de um sistema integrado de notificação podem não representar as curvas de tendências destas doenças e ficam muitas vezes restritas às publicações de instituições de ensino e pesquisa e informações técnicas. Desta forma e pensando em colher informações de forma voluntária dos veterinários que estão na rotina do atendimento direto com os animais, o Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz (Icict/Fiocruz) através do Núcleo de Experimentação

de Tecnologias Interativas (NEXT) em parceria com o Laboratório de Doenças Infecciosas do Instituto de Veterinária da UFRRJ tem trabalhado no projeto de vigilância em zoonoses e doenças infecciosas utilizando a plataforma Vicon Saga (<http://www.viconsaga.com.br/zoonoses>) na sua versão mobile que permitiria que os usuários possam baixar o aplicativo em dispositivos móveis e possam a partir de uma lista de doenças fazer notificações de casos suspeitos ou confirmados, permitindo a inclusão de dados básicos, imagens e vídeos, para o servidor da plataforma, permitindo a ampla disponibilização deste dados aos usuários e instituições. Os dados do registro são armazenados na memória interna do dispositivo móvel e, quando disponível a conexão com a Internet, podem ser submetidos e armazenados no banco de dados na web e estarão disponíveis em tempo real para a avaliação dos coordenadores remotos, onde quer que estejam. Esta é uma plataforma aberta a alterações possibilitando a inserção de novos campos com informações onde os usuários ou gestores em saúde poderão realizar ajustes afim de adaptar as informações às necessidades do serviço e, desta forma, permitirá ao longo do tempo e por adesão e envolvimento voluntário dos usuários, criar dados que possam ser utilizados pelas diversas instâncias (pesquisadores, instituições, órgãos públicos, alunos) na geração de dados epidemiológicos para pesquisa e planejamento de ações de prevenção e controle não só da Raiva como das demais doenças.



ASSESSMENT OF POTENTIAL WILDLIFE RABIES RESERVOIRS IN HAITI, 2015 TO PRESENT: AN ONGOING STUDY

Doty JB¹, Crowdis K², Augustine PD³, Monroe B¹, Niezgodá M¹, Berentsen AR⁴, Morgan C¹, Emerson GL¹, and Wallace R¹

¹ Poxvirus and Rabies Branch, US Centers for Disease Control, Atlanta, GA, USA and Prevention;

² Christian Veterinary Mission, Port au Prince, Haiti;

³ MANDR, Port au Prince, Haiti;

⁴ United States Department of Agriculture, APHIS, WS, National Wildlife Research Center, Fort Collins, CO, USA

Corresponding: Jeffrey B Doty

E-mail: jdoty@cdc.gov

In July 2015, we began investigating potential wildlife rabies reservoirs in Haiti, in particular the small Indian mongooses (*Herpestes auro-punctatus*) and bats. The small Indian mongoose occurs throughout much of Haiti and while little is known about bat diversity, many common Caribbean species are present. Data on rabies in mongooses in Haiti is lacking, but rabies has been reported in mongooses in the Dominican Republic and prevalence of rabies exposure in mongooses in the Caribbean ranges from 1.3 – 11.7% in Grenada to up to 39.3% in Puerto Rico. To date, we have sampled 32 mongooses from 4 locations and 60 bats from 2 locations in Haiti. The majority of the bats sampled have been Jamaican fruit bats (*Artibeus jamaicensis*, n= 38) and Mexican free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis*, n= 17) collected from caves and human structures. At the time of this writing, ~75% of the serum samples have been tested via RFFIT and have all been negative for the presence of rabies virus neutralizing antibodies. PCR will be conducted on oral swab samples to assess potential active rabies infections within these animals. Understanding the role wildlife may play as rabies reservoirs in Haiti will become increasingly important as canine rabies control efforts continue to improve.



AVALIAÇÃO DA VIGILÂNCIA DA RAIVA EM QUIRÓPTEROS EM ÁREA URBANA NO ESTADO DO CEARÁ, 2003-2016

Duarte NFH^{1,2,5}, Almeida CP³, Santiago SLT³, Lima FMG¹, Santos JZ¹, Franco ICF¹, Duarte BH⁴, Santos LJM⁴, Varela RH², Lima PIC², Garcia MHO^{1,5}, Oliveira RP¹, Melo IMLA¹, Alencar CH², Heukelbach J².

¹ Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

² Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

³ Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

⁴ Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, Brasil

⁵ Conselho Regional de Medicina Veterinária, Fortaleza, CE, Brasil.

Corresponding: Nayle Francelino Holanda Duarte

E-mail: nayle.holanda@gmail.com

Os quirópteros constituem um dos principais reservatórios do vírus rábico. O fato de que os mesmos estão se inserindo cada vez mais no meio urbano no estado do Ceará, Nordeste do Brasil e, conseqüentemente estando mais próximos dos seres humanos, torna o monitoramento destes animais de suma importância no âmbito da saúde pública. Foi avaliada a vigilância epidemiológica da raiva em quirópteros de 2003 até junho de 2016, no estado do Ceará, Nordeste do Brasil. Realizamos um levantamento epidemiológico acerca da circulação do Lyssavirus em quirópteros, através de dados obtidos da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará no Núcleo de Vetores (NUVET). Foram analisados relatórios do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) do Estado do Ceará, do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do Crato e da Unidade de Laboratório Animal (UNILAN). Os animais estudados foram oriundos de vigilância passiva. O número de amostras enviadas a cada ano aos laboratórios foi 19 (2003), 15 (2004), 40 (2005) e 18 (2006). De 2003 a 2006 não houve nenhum caso de raiva em quirópteros no Ceará. A partir de 2007 foi detectada raiva em quirópteros, representando 6,2% dos casos de raiva animal. No ano seguinte houve 17,6% dos casos de raiva animal. Em 2009 observou-se um declínio da positividade em morcegos, que totalizaram 5% dos casos de raiva ocorrida em animais; em 2010 não foram registrados animais positivos. A partir de

2011 observa-se um aumento dos casos de raiva animal em quirópteros, os quais alcançaram índices de 18,5%, 24% e 42,8%, nos anos 2011, 2012 e 2013. Concomitantemente, o número de amostras de quirópteros analisadas pelos laboratórios também aumentou, com análises de 132, 214 e 127 animais, nos anos 2011, 2012 e 2013, respectivamente. Nos dois anos seguintes, 2014 e 2015, houve uma queda dos casos de raiva animal nas espécies quirópteras com 17,4% e 22,9%, respectivamente. No entanto, o contrário significativo acontece no ano de 2016, onde, somente até o mês de junho, já foram registrados 23 casos de raiva em quirópteros dos 31 casos em animais positivos, ou seja, 74,2% dos casos de raiva animal ocorreram em morcegos em área urbana. Face ao aumento gradativo de casos de raiva em quirópteros no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil, torna-se de grande importância o monitoramento epidemiológico contínuo, haja vista o risco que esses animais representam na cadeia de transmissão do vírus, para os seres humanos e animais de estimação.

Palavras-chave: quirópteros, vigilância, raiva.



CIRCULAÇÃO DO VÍRUS DA RAIVA EM MORCEGOS NÃO HEMATÓFAGOS NA ÁREA URBANA DO MUNICÍPIO DE PELOTAS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Mota RSS^{1*}, Schuch LFD², Schuch DGM³, Scheffer KC⁴, Pacheco SM⁵, Dupont PM⁶, Canal CW⁶, Osmari CP¹, Witt AA⁷, Almeida E⁴, Rosa JA⁸

¹ Centro de Controle de Zoonoses, Vigilância Ambiental, Secretaria Municipal de Saúde, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

² Departamento de Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil

³ 3ª Coordenadoria Regional de Saúde da Secretaria Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul, Pelotas Rio Grande do Sul, Brasil

⁴ Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

⁵ Instituto Sauver, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

⁶ Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

⁷ Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) da Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

⁸ Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor, Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

Correspondente Roberta S Mota

E-mail: robertassmota@hotmail.com

O Rio Grande do Sul (RS) apresenta status de área controlada para o ciclo urbano da raiva há cerca de 20 anos, sem circulação de variantes caninas e sem o registro de casos humanos. Entretanto, verifica-se a manutenção de ciclos silvestres representados por quirópteros, inclusive em áreas urbanas. Este estudo tem por objetivo conhecer o comportamento do ciclo aéreo da doença na área urbana do município de Pelotas, RS, e avaliar a aplicação de técnicas de diagnóstico no estudo da circulação viral. Foram capturados 222 morcegos na área urbana do Município, através de vigilância ativa e passiva. Todos os animais foram submetidos à imunofluorescência direta (IFD) para o diagnóstico de raiva. Desses animais, foi coletado tecido cerebral, glândula salivar e suabe orofaríngeo para realização de RT-PCR para raiva. Dos animais capturados vivos, foi obtido sangue para realização de técnicas sorológicas, teste rápido de inibição de foco da fluorescência (RFFIT) e microteste simplificado de inibição da fluorescência (SFIMT). Dos morcegos avaliados,

oito foram positivos para vírus da raiva por IFD (3,60%). Os mesmos oito foram positivos para RT-PCR do tecido cerebral. Também, concordância de 100% foi encontrada utilizando tecido da glândula salivar. Os suabes orofaríngeos foram todos negativos para vírus. O RFFIT apresentou 23,27% de animais sororreagentes. O SFIMT mostrou 51,5% de animais sororreagentes, com sensibilidade de 89% e especificidade de 56,9% quando comparado ao RFFIT. A prevalência de positividade foi maior em morcegos obtidos por coleta passiva, ficando explícita a importância da vigilância passiva no controle da doença. O SFIMT apresentou baixa correlação em relação ao RFFIT. Elevando o ponto de corte de RFFIT para $\geq 0,5$ UI/mL e de SFIMT para $> 0,5$, os resultados foram idênticos, indicando que a adoção desses pontos de corte pode ser útil para a detecção de colônias com circulação do vírus da raiva.

Palavras-Chave: raiva, quirópteros, vigilância, diagnóstico.



CO-CIRCULATION OF RABIES AND ZIKA VIRUS IN PERIDOMESTIC NEOTROPICAL PRIMATES FROM CEARÁ STATE, BRAZIL

Favoretto SR ^(1,2), Araujo DB ^(1,2), Oliveira DL ⁽²⁾, Duarte NFH ⁽³⁾, Mesquita F ⁽²⁾, Crus NG ⁽²⁾, Zanotto P ⁽²⁾, Durigon EL ⁽²⁾

¹ - Pasteur Institute of São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brazil

² - Laboratory of Clinical and Molecular Virology – Institute of Biomedical Sciences - University of Sao Paulo, Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil

³ - Center of Vector-borne Diseases – Health Department of Ceara State (NUVET – SESA), Fortaleza, Ceara, Brazil.

Corresponding: Silvana Favoretto

E-mail: srfavoretto@usp.br

During a study of rabies in Brazilian terrestrial wildlife in the State of Ceará, Northeast region and an epidemic area for wildlife rabies, 16 white-tufted marmosets (*Callithrix jacchus*) and 26 black striped capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) were captured from July of 2015 to March of 2016. The regions in the state and the sites of capture were determined considering previous cases of rabies, especially in marmosets and crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*). Animals were captured in sites where they could be found in close contact with humans (backyards or areas with vegetation in urban and suburban areas or close to the residences in rural areas). Samples of sera and oral swabs of these animals were also tested for Zika virus (ZIKV) with real-time PCR (qPCR). Seven animals (7/42) presented positive results for ZIKV, four marmosets and three capuchin monkeys, and the genetic sequencing showed high similarity with the ZIKV isolates circulating in the Northeast region of Brazil. ZIKV, an emerging mosquito-borne virus transmitted primarily by *Aedes* mosquitoes, was first identified in Uganda in 1947 in a rhesus monkey (*Macaca mulatta*). In Brazil, the first diagnosed case of ZIKV in humans was reported in 2015 in the State of Rio Grande do Norte, with subsequent reports in all the States of the Country (mainly in the Northeast region) and association to fetal malformations and neurological disorders. Five hundred and forty eight cases

of microcephaly were notified in Ceara State alone in the period from October 2015 to April 2016. Out of these, a hundred and thirty six (24,8%) had laboratory confirmation as related to congenital infections. Confirmed cases were reported in two of the three regions from where the positive animals were sampled and one region had report of suspected cases. The regions with ZIKV positive samples were a coastal area (Fortaleza, the capital of the state), a mountain region with rainforest remnants (“Serra da Ibiapaba”) and a semi-arid region (“caatinga”). In the mountain region, rabies was diagnosed in marmosets in the same cities and period of 2015. These results are evidence that ZIKV can infect neotropical primates as observed for the Old World primates. Moreover, the results show that rabies and ZIKV were circulating in the same region, period of time and animal species. The continuous surveillance and educational activities for wildlife animals, especially when these animals can be found in close contact with human and domestic animals populations (as observed in our rabies study), are of extreme importance. Because the zoonosis maintained and transmitted by wildlife animal populations is a constant and increasing problem that could be better controlled considering the human, animal and environmental aspects.



COMPARISON OF THE BRAIN COLLECTION TECHNIQUES AND EVALUATION OF THE SPINAL CORD AND MIXED BRAIN TISSUES AS SPECIMEN FOR RABIES DIAGNOSIS

Manalo DL, Gomez MRR

Research Institute for Tropical Medicine-Department of Health Muntinlupa City, Philippines

Corresponding: Daria L Manalo

E-mail: darsky1566@gmail.com

Introduction: One of the important considerations in rabies diagnosis is the collection of brain specimen. The standard method of collecting brain sample is the opening of the skull in which specific parts are collected. However, the method is very hazardous to the dissector in terms of injury by sharp tools and bone edges. Furthermore, it requires training and a room specially designed for the purpose and needs biosafety level II facility. There is a need to have alternative brain collection techniques which can be easily done in the field. Objectives: The study evaluated the three alternative brain collection techniques (1. collection of brain using straw, 2. collection of brain via ventral approach and 3. collection of brain sample via dorsal approach) in comparison with the standard method using score sheet. Moreover, spinal cord and mixed brain were assessed if comparable with the standard recommended parts of the brain which are the hippocampus, brain stem and cerebellum. Methods: Routine dog's head submitted for rabies diagnosis were randomly assigned for each of the alternative method. Each specimen had two methods of collection, first the alternative collection, followed by the standard method. Score sheet was accomplished per specimen during the collection of brain sample. Touch impressions were done for each collected brain tissues. The touch impressions were processed using the direct fluorescent antibody test (dFAT) and read under the immunofluorescence (IF) microscope. The criteria for the evaluation are the following: result of the IF reading which had the highest percentage, the biosafety considerations, cost and difficulty of the procedure. Results: Partial results showed that among the four methods of

brain collection, the standard method got the lowest score and the collection technique using the straw got the highest score. In terms of the IF reading, the collection via the ventral approach got highest score. However, the ventral approach got the lowest score in terms of cost, biosafety consideration and difficulty of the procedure. Rabies antigen distribution in the standard parts of the brain is comparable with mixed brain tissues. On the other hand, the spinal cord gives the lowest score in the rabies antigen distribution. Keywords: rabies, diagnosis, specimen, dFAT, mixed brain tissues.



DESAFIOS NO DIAGNÓSTICO DE RAIVA EM EQUINOS: RELATO DE CASO

Benedito Donizete Menozzi, Sâmea Fernandes Joaquim, Giulia Latosinski, Dalia Monique Rodrigues Machado, Hélio Langoni

Correspondente Benedito Donizete Menozzi

E-mail: benedito.dmenozzi@gmail.com

A Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza o uso de duas técnicas para o diagnóstico laboratorial de raiva em animais: imunofluorescência direta (IFD) e inoculação intracerebral em camundongos ou prova biológica (PB). Ambas utilizam um conjunto de fragmentos do sistema nervoso central (SNC), córtex, cerebelo e hipocampo, além de medula e tronco encefálico em caso de amostras de equinos. Nesses animais ambas as técnicas podem apresentar resultado falso negativo quando não se faz a análise das amostras de SNC individualmente. Estudos evidenciam que a replicação do vírus da raiva na região lombar da medula óssea de um cavalo resulta em dano neurológico suficiente para levar o animal a morte antes que o vírus atinja o seu cérebro. O Laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista de Botucatu-SP implantou o método de inoculação individual dos fragmentos encefálicos há alguns anos, após a avaliação de casos de raiva em equinos que se apresentaram negativos na IFD, ocorrendo morte de apenas um a dois camundongos na PB realizada com o conjunto de fragmentos do SNC. Ressalta-se que a rapidez e sensibilidade do diagnóstico é primordial, principalmente quando há humanos contactantes. Apresentamos aqui o relato de caso de um equino de quatro anos de idade que apresentou incoordenação motora que progrediu para decúbito lateral e morte, com colheita de amostra de SNC para o diagnóstico de raiva. O exame de IFD dos cinco fragmentos do SNC (córtex, cerebelo, hipocampo, tronco encefálico e medula) desse animal apresentou resultados negativos. Foram preparados inóculos individuais dos fragmentos para realização da PB. Nessa prova, no 14º

dia de observação um camundongo inoculado com material de medula e outro de tronco encefálico apresentaram paralisia e morte, com resultado positivo à IFD. Os demais camundongos restantes foram observados por 30 dias, não apresentando sinais clínicos. Em paralelo, material contendo o conjunto dos fragmentos do SNC também foi inoculado e não houve morte dos camundongos em 40 dias de observação. Os fragmentos também foram analisados por PCR em tempo real (qPCR), empregando-se o sistema SYBR Green RNA (one step) para quantificação viral. A curva padrão foi preparada a partir do Challenge Virus Standard (CVS) padronizado no teste de infecciosidade e a carga viral foi estimada em 1×10^5 unidades virais (uv)/mL. Fragmentos de córtex, cerebelo, hipocampo e medula foram negativos à qPCR e apenas a porção de tronco encefálico apresentou uma baixa carga viral, de 145,6 uv/mL em comparação ao CVS. Esses resultados reforçam as particularidades do diagnóstico de raiva em equinos e atentam para a necessidade de individualização dos fragmentos de SNC para a realização da PB, o que aumenta a sensibilidade da técnica em comparação à PB somente com o conjunto de fragmentos.



DETECTION OF RABIES VIRUS NUCLEOPROTEIN BY MASS SPECTROMETRY IN CLINICAL SAMPLES

Reed MS, Stuchlik O, Carson WC, Orciari L, Li Y, Wu X, Pohl J, Satheshkumar PS

Corresponding: Subbian Satheshkumar Panayampalli

E-mail: xdv3@cdc.gov

Rabies virus (RABV), is a highly neurotropic virus that infects human and animals causing a fatal encephalomyelitis. It is a prototype member of the genus lyssavirus and has negative-sense RNA genome. Early diagnosis of rabies virus infection is very critical for treatment with post-exposure prophylaxis in the absence of anti-viral drug therapy. Rabies virus diagnosis relies on several tests that includes detection of antigens (DFA, dRIT), antibodies (RFFIT, IFA) and nucleic acids (RT-PCR). Since, spread of RABV to central nervous system is more critical for disease transmission, detection of antigens and nucleic acids in brain are more important than antibodies. RABV genome encodes five proteins, of which nucleoprotein (N protein) present at the 5' end of the genome is the most expressed. Hence, antigen detection are primarily carried out using antibodies against N proteins either based on fluorescence (DFA) or histochemistry (dRIT). DFA (direct fluorescent antibody) is the predominant diagnostic test used for rabies antigen detection in brain and skin samples. In this study, an alternate method for detection of RABV N protein in clinical samples using mass spectrometry was validated. The results and potential advantages of this novel technology for rabies detection will be discussed.



DIAGNÓSTICO DA RAIVA EM QUIRÓPTEROS NO ESTADO DO CEARÁ

Franco ICF¹, Lima FMG¹, Duarte NFH¹, Lima MCVG¹, Regis SRS², Franco SO⁵, Araújo DB⁴, Mello LP¹, Garcia MHO¹, Favoretto SR^{3,4}.

¹ Secretaria Estadual da Saúde do Ceará, Brasil

² Secretaria Municipal de Agricultura de Lavras da Mangabeira, Ceará, Brasil

³ Secretaria de Estado da Saúde - Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil,

⁴ USP - Instituto de Ciências Biológicas, São Paulo, Brasil

⁵ Secretaria Municipal de Saúde Fortaleza

Correspondente Isabel Cristina Félix Franco

E-mail: isabel.franco@lacen.ce.gov.br

Dados recentes do Ministério da Saúde no Brasil relataram que a transmissão por quirópteros representou 45% dos casos humanos, ficando em segundo lugar. A identificação genotípica e antigênica do vírus da raiva por técnicas moleculares têm dado significativa contribuição para os estudos de interação entre os ciclos de transmissão, entre diferentes espécies e ambientes urbano e silvestre. O presente trabalho utilizou o método descritivo, considerando a análise dos dados dos relatórios de amostras de quirópteros processadas no Laboratório de Diagnóstico da Raiva do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) do estado do Ceará, no período de janeiro de 2013 a julho de 2016, bem como os laudos de tipificação viral do Instituto Pasteur de São Paulo e Departamento de Virologia da USP. As duas provas diagnósticas utilizadas foram a imunofluorescência direta e o isolamento viral por inoculação em camundongos lactentes (prova biológica). Foram analisadas 1.830 amostras sendo 1.482 (80,98%) de outras espécies e 347 (19,01%) de quirópteros, e o objetivo é dar uma visão preliminar das famílias que ocorrem no Ceará, e quais representam maior risco de transmissão, com o intuito de subsidiar a gestão na implantação da classificação taxonômica no diagnóstico da Raiva. Os morcegos foram classificados em Família segundo Chave Visual para Identificação de Morcegos do Brasil. Identificamos cinco famílias de quirópteros. Dos 192 (55,4%) espécimes classificados, 144 (41,37%) eram da

Família Molossidae, 33 (9,51%) Phyllostomidae, 7 (2,01%) Vespertilionidae, 7 (2,01%) Emballonuridae, 1 (0,28%) Noctilionidae. De todos os morcegos examinados 12,68% (44/347) foram positivos nas duas provas diagnósticas sendo que 60% foram Molossídeos. Em 2014 recebemos um exemplar de *Diemus youngi* do município de Potiretama. De 19 amostras enviadas ao Instituto Pasteur e USP para tipificação viral identificando a variante antigênica pela metodologia da IFI com painel de anticorpos monoclonais do CDC de Atlanta, ou RT-PCR e sequenciamento genético identificando a linhagem genética do vírus, 10 amostras eram da variante antigênica de morcegos não hematófago, nos municípios de Limoeiro do Norte, Jaguaribe e Bela Cruz, 8 amostras eram da linhagem genética de morcegos insetívoros *Nyctinomops laticaudatus*, nos municípios de Quixeré, Pereiro e Tabuleiro, e 1 amostra era da linhagem genética de morcegos hematófagos da espécie *Desmodus Rotundus*. Considerando que número considerável de espécimes não foi identificado, que a classificação é ainda incipiente, e que ainda existem muitas regiões do estado sem vigilância virológica em quirópteros, concluímos que a ocorrência de Molossídeos infectados no ambiente urbano traduz o risco de transmissão para humanos, seja diretamente, seja através de cães e gatos, indicando urgente necessidade de implantação de atividades educativas de rotina e de manejo ambiental nos programas de controle da raiva, bem como mais investimento em técnicas diagnósticas.



EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE AND SEROLOGICAL PROFILE OF DESMODUS ROTUNDUS BAT CAPTURED FROM PLACES WITH OR WITHOUT HERBIVOROUS RABIES REPORT AND MANTAINED IN CAPTIVITY

Castro FFC^{1,4}, Silva LDB¹, Appolinario CM¹, Peres, M G¹, Mioni M¹, Ribeiro BD¹, Fonseca CR¹, Katz ISS², Ferreira SCK², Silva RS², Barone GT³, Martorelli LFM³, Almeida MF³, Megid J¹

¹. UNESP-Univ Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-Botucatu-SP,Brasil;

². Instituto Pasteur de São Paulo-SP-Brasil;

³. Centro de Controle de Zoonoses-SP, Brasil (Pesquisadora aposentada Centro Controle de Zoonoses-SP, Brasil);

⁴UAN Universidad Antonio Narino Cauca Popayan Colombia

Corresponding: Jane Megid

E-mail: janemegid@gmail.com

Considering the importance of *Desmodus rotundus* bats as a reservoir for rabies in Brazil and considering the diagnosis of rabies in herbivorous in Central West region of São Paulo State, bats from Anhembi (bovine rabies in 2015), Botucatu (bovine rabies in 2011, 2015 and positivity in non- haematophagous bats frequently) and Bofete (rabies in 2013 and 2016) municipalities were captured for epidemiological surveillance (antirabies neutralizing titer evaluation) during and after outbreaks. In addition, from these same places, six bats from Anhembi, four bats from Botucatu and six bats from Bofete were captured and maintained in captivity being isolated in individual cages with HEPA filter, during 4 months. From all animals blood were collected from cephalic vein in the wing (0.2–0.3 ml) using a hematocrit tube and sera were evaluated for antirabies neutralizing antibodies once a month. Epidemiological evaluation demonstrated significant difference in antirabies antibodies titers, during and after outbreaks, in these bats captured from places where rabies were occurring contrarily to bats captured in places where rabies was not reported. Interestingly, bats mantained in captivity and captured in caves located in places with different epidemiological situation for rabies, presented antirabies neutralizing antibody in low titers at the moment of they were captured and then

antirabies titer fluctuation during the 4 months evaluation period. The results of epidemiological evaluation corroborate previous published studies where antirabies antibodies titer increase were reported in bats during herbivorous rabies outbreaks. Antirabies antibodies fluctuation was already reported in bats recaptured from wildlife of monitored colonies probably associated to rabies virus exposure in nature. Interestingly, in our study antirabies antibodies fluctuation was observed in bats maintained in captivity without any contact with each other or virus, suggesting that titer variability is independent of rabies virus re-exposition. A question to be raised is the real significance of low titer of antirabies neutralizing antibodies as 0.1UI/mL in bats. Several studies considered them indicative of rabies virus contact, but are they really indicative for rabies virus exposure or can just be an inespecific reaction?



EPIZOOTIA DE RAIVA EM CANÍDEOS SILVESTRES, CE, NORDESTE, BRASIL

Lima FMG¹, Santos JZ¹, Chaves CS¹, Rodrigues VC¹, Lima MFC¹, Franco ICF¹, Duarte NFH^{1,2}, Almeida CP³

Correspondente Fabíola Maria de Girão Lima

E-mail: biulagirao@gmail.com

O perfil da raiva no Brasil, nos últimos quinze anos, sugere mais atenção e incentivo às ações de vigilância e prevenção da raiva silvestre. Dados do Ministério da Saúde mostram que, neste período, 47,22% dos casos de raiva humana tiveram animais silvestres como agente transmissor, e 50% dos casos por cães e gatos. No Ceará, a raiva em animais silvestres se apresenta de forma endêmica em vários municípios. Este trabalho teve como objetivo descrever uma epizootia de raiva em canídeos silvestres no município de Jaguaribe, Ceará, Brasil. Foram realizadas análises das fichas de atendimentos antirrâbicos humanos do SINAN NET - Sistema Nacional de Agravos de Notificação e dos relatórios de raiva animal provenientes do GAL - Gerenciamento de Análise Laboratorial. No ano de 2015, o município de Jaguaribe notificou 237 atendimentos antirrâbicos, sendo 93,67% consequência de agressões de cães e gatos; 4,21% de animais silvestres e 2,1% de outras espécies. Das agressões por espécies silvestres, quatro foram causadas por cachorro do mato, quatro por macacos e um por quiróptero. Neste mesmo ano, foram analisadas 17 amostras de animais suspeitos, sendo 12 de quirópteros, quatro de canídeos silvestres e um de felino. Somente as amostras dos canídeos silvestres apresentaram 100% de positividade e as demais foram negativas. Os animais positivos agrediram pessoas durante o dia, na área rural, com idade entre 32 e 78 anos, sendo 75% das agressões em homens. Os animais atacaram de surpresa, muito agressivos, mordendo com força e insistência, sendo mortos pelas vítimas por asfixia ou com instrumentos cortantes. Há relatos de frequente presença destes animais durante a noite. Os pontos focais apresentavam uma distância

média de 21,91km, sendo a distância mínima de 4,35km e a máxima de 30,3km entre eles. As ações de controle focal implementadas pelo Estado e Município foram: capacitação sobre o protocolo de atendimento antirrábico humano para profissionais da atenção básica; formação de multiplicadores da Secretaria Municipal da Educação; visitas de sensibilização à Secretaria Municipal de Agricultura e Agência de Defesa Agropecuária do Estado – ADAGRI; vacinação de cães e gatos e divulgação sobre a doença em programas de rádio. Considera-se que a investigação epidemiológica in loco foi relevante diante das circunstâncias em que aconteceram os ataques, e que o município desenvolve com eficácia a vigilância passiva da raiva silvestre. Contudo, a confirmação da circulação do vírus em canídeos silvestres é preocupante, pois os fatores ambientais, como a escassez de chuva e mudanças na ecologia da região, podem influenciar na dinâmica da enfermidade nestas espécies e sua aproximação das pessoas, colocando-as em risco. Dados e fatores apresentados alertam aos órgãos competentes do país para a importância da epidemiologia da raiva em canídeos silvestres. Além disso, o tema desafia pesquisadores para mais estudos da dinâmica do vírus no contexto silvestre.



EPIZOOTIA DE RAIVA EM HERBÍVOROS NO MUNICÍPIO DE AURORA, CEARÁ, BRASIL

Loureiro AM¹, Gonçalves AGCM¹, César CNR¹, Ferreira FF¹, Mamedes JEL¹, Lima RR¹, Silva AWL¹, Carvalho AL¹, Neto PCO¹, Luiz EP², Franco ICF³.

¹. Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará - ADAGRI, Brasil.

². Secretaria Municipal de Saúde de Aurora - Ceará, Brasil.

³. Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará – LACEN, Brasil.

Correspondente Avatar Martins Loureiro

E-mail: avatar.loureiro@adagri.ce.gov.br

A raiva é considerada uma das mais importantes zoonoses pela sua distribuição mundial e por suas drásticas consequências tanto na saúde pública como na saúde animal. O agente causador da raiva é um RNA vírus envelopado do gênero *Lyssavirus* da família *Rhabdoviridae*. Em toda a América Latina, os morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* são os principais hospedeiros do vírus na natureza no ciclo aéreo, sendo os principais transmissores da infecção nos bovídeos e outros herbívoros. A maioria dos casos de raiva em herbívoros é transmitida por meio da mordedura causada por um animal infectado, com inoculação por meio da via transcutânea do vírus presente na saliva. No Brasil, a doença é endêmica, apresentando variações de acordo com a região geográfica e com grande importância dos quirópteros na manutenção da cadeia de transmissão selvagem. Em face de sua distribuição desigual, em um mesmo país podem existir áreas livres e outras endêmicas, apresentando eventuais epizootias. O município de Aurora, localizado no estado do Ceará, Brasil, vivenciou uma epizootia no ano de 2015, com 26 suspeitas de raiva em herbívoros. O Serviço Veterinário Oficial (SVO) da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI) realizou o atendimento das suspeitas, e após a morte natural dos animais, foram coletadas amostras de Sistema Nervoso Central (SNC) para envio ao laboratório. A ADAGRI, sob Coordenação do Programa Estadual de Controle da Raiva em Herbívoros (PECRH), atuou nas regiões rurais do município realizando ações de vigilância ativa, por meio da

coleta de amostras e vigilância nos focos e perifocos; vacinação dos animais herbívoros das propriedades; trabalhos de educação sanitária por meio de reuniões com as entidades parceiras do município e principalmente palestras para os criadores da região; cadastro de abrigos e controle populacional da espécie *Desmodus rotundus*. Foram, 24 casos confirmados positivos, laboratorialmente, para raiva em herbívoros, entre os meses de setembro e novembro. Sendo, das amostras coletadas pelo Serviço Veterinário Oficial (SVO), 2 (duas) positivas para equino, 1 (uma) para asinino e as demais para bovinos. Foram realizadas vacinações antirrábicas dos animais herbívoros em mais de 53 propriedades, como também, 17 eventos de educação sanitária e cadastramento de abrigos de morcegos hematófagos. Tendo em vista as ações realizadas no município de Aurora, os casos de raiva foram minimizados e até o momento não houve mais notificações da doença. Com isso, verificamos que as estratégias aplicadas pelo PECRH foram efetivas e fortaleceram a vigilância epidemiológica, colaboraram na prevenção e controle da raiva.



EPIZOOTIA DE RAIVA EM MORCEGOS NO MUNICÍPIO DE LIMOEIRO DO NORTE/CE, EM 2015

Duarte NFH ^(1,2,5), Almeida CP ⁽³⁾, Lima FMG ⁽¹⁾, Santos JZ ⁽¹⁾, Franco ICF ⁽¹⁾, Santos RLG ⁽⁶⁾, Duarte BH ⁽⁴⁾, Santos LJM ⁽⁴⁾, Varela RH ⁽²⁾, Lima PIC ⁽²⁾, Garcia MHO ⁽⁵⁾, Oliveira RP ⁽¹⁾, Melo IMLA ⁽¹⁾, Araújo DB ⁽⁷⁾, Favoretto SR ^(7,8), Alencar CH ⁽²⁾, Heukelbach J ⁽²⁾

¹ Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

² Universidade Federal do Ceará –Fortaleza, CE, Brasil

³ Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

⁴ Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, Brasil

⁵ Conselho Regional de Medicina Veterinária, Fortaleza, CE, Brasil

⁶ Secretaria Municipal de Saúde de Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil

⁷ Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

⁸ Instituto Pasteur de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Correspondente Danielle Araújo

E-mail: daniellebastos@yahoo.com.br

Desde a implantação da vigilância passiva da raiva em quirópteros em área urbana no estado do Ceará que as notificações de circulação do Lyssavirus nestas espécies vêm aumentando. Fato este comprovado nos últimos seis anos em alguns municípios do estado. O Objetivo deste trabalho é descrever uma epizootia de raiva em morcegos não hematófagos, no município de Limoeiro do Norte/Ceará/Brasil, em 2015. Segundo o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN), no referido ano, das 70 amostras positivas para a raiva em todo o Estado, 16 (22,85%) foi de morcegos não hematófagos, suplantadas apenas pelo número de amostras bovinas 33 (47,14%). Dentre as amostras positivas de morcegos não hematófagos, seis (37,5%) foram de Limoeiro do Norte. Sabe-se que todos os animais foram encontrados paralisados e caídos durante o dia, e 88% deles em área urbana. Em meio aos positivos, um pertencia à família Phyllostomidae, que agrediu uma senhora de 73 anos, ao pegá-lo no chão do seu quintal, na área rural do município. Na ocasião, a idosa pensava tratar-se de seu pássaro de estimação que havia fugido da gaiola. A senhora foi encaminhada ao hospital para fazer o esquema profilático. De acordo com a ficha de notificação da paciente, havia sido prescrito apenas cinco doses

de vacina, mas depois foi providenciado o uso do soro antirrábico. Durante a epizootia, uma equipe de profissionais do Estado e Município encontrou no forro de uma residência da zona urbana do município, a colônia de onde provieram os primeiros animais positivos para raiva. No lugar coletou-se um exemplar morto, da espécie *Myotis nigricans* com posterior diagnóstico para a doença. Diante da situação de epizootia, o Estado e Município promoveram ações como: treinamento dos agentes de endemias; bloqueio vacinal de 76 cães e 25 gatos da localidade onde houve a agressão; notificação e alerta à Agência de Defesa Agropecuária (ADAGRI); reunião com os gestores da região, enfatizando a importância da vigilância da raiva; divulgação em programa de rádio sobre a epidemiologia e prevenção da raiva. Assim, as condutas adotadas perante a comprovação da circulação do *Lyssavirus* e o risco de transmissão para outras espécies, em especial para os humanos, contribuíram para despertar nos gestores da saúde, técnicos e população, um novo olhar para a vigilância da raiva, uma vez que a região é rica em fauna silvestre. Contudo, torna-se importante uma atualização sobre as normas de profilaxia da raiva para os profissionais de saúde do município.



ESTATUS Y PERSPECTIVAS DE LA REGULACIÓN JURÍDICA DE LA ESTERILIZACIÓN DE PERROS Y GATOS EN MÉXICO

Saloma LGM

Corresponsal: Gabriel Martín Saloma Linares

E-mail: cezei@hotmail.com

Los objetivos de la esterilización de perros y gatos pueden dividirse, con fines explicativos, por lo menos en dos grandes grupos. En el primero, podemos incluir aquellos que se persiguen en forma particular, básicamente por los propietarios de los animales, a los que podríamos llamar intereses individuales ya que producen beneficios para determinadas personas, y cuya satisfacción se logra a través de esterilizaciones individuales, entre ellos estarían, por ejemplo, evitar la reproducción indeseada, corregir o prevenir conductas molestas que pudieran estar relacionadas con el patrón reproductivo y evitar o corregir trastornos hormonodependientes. Por el contrario, en el segundo grupo, estarían los que interesan a la sociedad en su conjunto, cuyo logro beneficia a todos los integrantes de la comunidad, por lo que podríamos llamarles intereses colectivos, en cuyo caso se satisfacen a través de esterilizaciones colectivas o masivas, generalmente ofertadas por organizaciones de la sociedad civil o el propio Estado, en ellos podemos incluir el control de las poblaciones de estas especies con motivos de salud pública y el bienestar de las mismas, evitando perros y gatos en situación de calle. En el caso de la esterilización individual, por no existir disposiciones que regulen el acto quirúrgico en sí, está sujeta a la regulación de cualquier acto o servicio proporcionado por un profesional de la medicina veterinaria, cuyas actividades están reglamentadas por diversas disposiciones legales entre las que destacan las relativas a la salud pública, la sanidad animal y las de protección a los animales. Además, debe asumir las obligaciones civiles por la prestación de sus servicios, y en su caso ser responsable penalmente por los daños ocasionados, lo que además de una sanción pecuniaria y pérdida de la libertad, le puede privar temporal

o definitivamente el derecho de ejercer su profesión. En consecuencia, para el caso de las esterilizaciones colectivas, deberá cumplirse con la misma regulación, asumiendo la persona moral las obligaciones y responsabilidades. Tanto las esterilizaciones individuales como las colectivas, dependen de la voluntad de los propietarios de los animales, sin embargo, en determinados supuestos, en los que se compromete la salud pública por falta de control reproductivo, puede considerarse la esterilización como de interés público, y por tanto obligatoria. Se concluye que: 1.- La esterilización de perros y gatos, cualquiera que sea su objetivo, está sujeta a la prestación de un servicio profesional que se encuentra regulado por las disposiciones legales que tutelan el interés privado, haciéndose necesarias las disposiciones de tipo administrativo que regulen el proceso del acto quirúrgico en animales, y 2.- Hasta el momento, la esterilización de estos animales obedece a un acto de voluntad de sus propietarios, pero cuando por falta de la misma se afecte el interés público o social, puede establecerse como obligatoria.



EVALUATION OF LONG-TERM PROTECTIVE EFFICACY OF RABIES VACCINES IN DOGS

Zhen F. Fu¹, Gnanadurai C¹, Huang J¹, Huang Y¹, Zhang X¹, Larson LJ², Schultz DR²

¹ Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, University of Georgia Athens, GA 30602, USA,

² Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, Madison, WI 53706

Corresponding: Zhen F. Fu

E-mail: zhenfu@uga.edu

Rabies is a fatal encephalitis caused by the rabies virus, resulting in more than 59,000 human deaths worldwide each year. Rabies in humans can be prevented by pre- and post-exposure immunizations. The most effective way to prevent rabies, however, is mass vaccination of dogs, the most important rabies reservoir in spreading rabies to humans. In the developed countries, dogs are immunized repeatedly, which can cause side effects in the animals and financial burdens for the owners. In the developing countries, routine vaccination are often not practiced due to the cost of the vaccines and a large population of stray dogs. These problems have prompted debate to reanalyze the vaccine protocols and to extend the revaccination intervals. To evaluate the long-term efficacy of current rabies vaccines, beagles vaccinated 6, 7 or 8 years earlier were challenged with a virulent rabies virus. It was found that 80, 50, and 20% of dogs survived the challenge, respectively. All the unvaccinated, age-matched control dogs succumb to rabies. Immunological analysis indicate that the six-year immunized dogs developed stronger immune responses such as memory B and T cell responses, DC activation, and virus-neutralizing antibodies than the 7- or 8-year immunized animals. The current data suggest that protective immunity can last up to 6 years after a single shot of rabies vaccine in dogs.

Acknowledgement: This study is funded by Rabies Challenge Fund

EVALUATION OF NATIONAL SURVEILLANCE FOR HUMAN AND PET CONTACTS WITH ORAL RABIES VACCINE BAITS

Styczynski A ⁽¹⁾, McCollum A ⁽¹⁾, Petersen B ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Corresponding: Ashley Styczynski

E-mail: yxn2@cdc.gov

Background: Despite elimination of canine rabies in the United States, wildlife rabies remains a threat to human safety. The burden of rabies in wildlife has changed over time, most recently with the introduction of raccoon-variant rabies virus that has spread along the East Coast. Oral rabies vaccine (ORV) encased within baits to attract raccoons has been used to control the westward spread of this variant. The vaccine contains either recombinant vaccinia virus or adenovirus as a vector, which can potentially infect humans or pets if they come in contact with the bait. To monitor inadvertent exposures to humans or pets, a surveillance program was instituted in partnership with federal health authorities in states in which baiting occurs. Methods: Surveillance data from state ORV programs and USDA during the 2008-2014 baiting seasons were collected and analyzed to determine whether various baiting practices were associated with increased human or pet contacts. Results: Over the seven years of evaluation, 61,600,367 baits were distributed, resulting in 1487 bait-related phone calls, 1111 pet contacts, and 315 human contacts. Twenty-four individuals received medical care as a result of bait exposure, but only one serious adverse outcome occurred in an immunocompromised individual who developed a vaccinia virus infection requiring specialized treatment. An additional three people developed minor skin reactions. Adverse outcomes among pets consisted of vomiting (59%), diarrhea (22%), and temporary loss of appetite (6.8%). Bait density was weakly associated with total number of baits found ($r = 0.24$, $p = 0.042$) and number of pet-related calls ($r = 0.25$, $p = 0.038$) but not with proportion of baits found ($r = 0.120$, $p = 0.348$).

Of the modalities of bait distribution, hand baiting had the most significant positive correlations including total calls, pet-related calls, pet-retrieved baits, adverse events to pets, and number of baits found ($r = 0.77, 0.78, 0.44, 0.56, 0.79$; $p = <0.001, <0.001, 0.002, <0.001, <0.001$). Conclusion: The data demonstrate that overall bait exposures by humans or pets are infrequent. In regards to program characteristics, total number of bait finds may be related to bait density, and hand baiting is associated with more inadvertent bait exposures. Baiting programs could use this information to alter methods of bait distribution and inform future surveillance strategies. Acknowledgements: Richard Chipman, USDA; Kathleen Nelson, USDA; Catherine Brown, Massachusetts Dept of Public Health; Danielle Stanek, Florida Dept of Health. Financial Support: All funding for this research has been supported through programmatic funds of the Centers for Disease Control and Prevention and represents no conflict of interest.



EVIDENCE OF INTERSPECIES TRANSMISSION OF RABIES VIRUS ISOLATED IN TERRESTRIAL WILD MAMMALS FROM DIFFERENT BIOMAS IN CEARA STATE, BRAZIL

Araujo DB ^(1,2), Duarte NFH ⁽³⁾, Crus NG ⁽²⁾, Nogi KI ⁽¹⁾, Caporale GMM ⁽¹⁾, Franco I ⁽⁴⁾, Soares FA ⁽⁴⁾, Martorelli ⁽⁵⁾, Rolim BN ⁽⁴⁾, Durigon EL ⁽²⁾, Favoretto SR ^(1,2).

¹ - Instituto Pasteur de São Paulo, São Paulo, Brasil

² - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

³ - Núcleo de Vetores, Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, Brasil

⁴ - Laboratório Central de Saúde Pública, Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Brasil

⁵ - Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo, São Paulo, Brasil

Corresponding: Silvana Favoretto

E-mail: srfavoretto@usp.br

Rabies in terrestrial wildlife is an important issue in Northeast Brazil. Two independent genetic variants were identified in this region, white-tufted marmoset (*Callithrix jacchus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), both responsible for cases in humans. These variants were first identified in Ceara State and are restricted to the Northeast. The aim of this study was the antigenic and genetic characterization of rabies isolates of terrestrial wild mammals from Ceara, considering animal species and biomes of the state. For the antigenic, a panel of monoclonal antibodies against rabies virus was used. The genetic was performed using Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) and sequencing as previously described. Nineteen samples (11 crab-eating foxes, 06 marmosets, 01 raccoon – *Procyon cancrivorus* and 01 domestic cat – *Felis catus*) were studied. Two antigenic variants were identified: variant 2 (AgV-2), related to domestic and wild canids populations and the antigenic profile related to marmosets. In the genetic characterization, all samples from foxes, the sample from raccoon and from the domestic cat segregated with isolates from domestic and wild canids in a subgroup specific for wild canids of Northeast Brazil. Samples from all the marmosets and from a crab-eating fox segregated in the clade specific for marmosets. The results from the genetic

characterization are in accordance with those from the antigenic. However, the genetic provide more complete information, since it discriminated the isolates as related to the wild canid populations additionally to the AgV2. These results confirm the maintenance of the previously described rabies variants related to terrestrial wildlife in the Northeast. Additionally, our results demonstrate the inter-species transmission of the virus, as observed in the identification of the marmoset variant in a crab-eating fox and the wild canid variant in raccoon and domestic cat. All samples were obtained by passive surveillance, from animals found dead or ill, in locals were they were in close contact with humans and/or domestic animals and often after reports of aggression. The majority of samples (11) and all inter-species transmissions were from a specific area of Ceara State, a mountain range with rainforest remnants. The other samples (08) were obtained in several, far apart, regions with the predominant biome of the State, semi-arid (“caatinga”). A study is being conducted to determine if this difference is due to environmental characteristics or a consequence of a more efficient surveillance. The persistence of specific virus lineages in terrestrial wildlife is a constant, and increasing, risk for rabies transmission to humans and domestic animals. Considering this, continuous surveillance and educational activities are essential. However, a better understanding of the ecoepidemiology of rabies in the region and new and improved methods for wildlife rabies prevention and control are of extreme importance.



FIRST LABORATORY-CONFIRMED HUMAN RABIES DEATH IN HAITI IN 15 YEARS: A CASE EXAMPLE FOR THE USE OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AS A SCREENING TEST

Ryan M. Wallace, Roland Cadet, Ashutosh Wadhwa, Lillian Orciari, Natael Fenelon, Andrecy Livesey, Kelly Crowdis, Pierre Dilius, Mary Reynolds, Yu Li

Corresponding: Ryan Wallace

E-mail: euk5@cdc.gov

The Republic of Haiti has the highest rate of human rabies deaths in the Western hemisphere, estimated at 130 per year. However, due to limited surveillance and diagnostic capacity for human rabies, an average of only 7 are recognized per year; all diagnosed based upon clinical signs. Haiti's national animal rabies laboratory routinely performs rabies diagnosis on animals utilizing the international gold standard, direct fluorescent antibody (DFA) test. In response to a high number of indeterminate and unsatisfactory samples, in June 2016 the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) implemented a pan-lyssavirus Taqman based real-time RT-PCR test for the detection of rabies in samples unsuitable for DFA. On June 28th rabies control personnel with the Pan American Health Organization and Department of Epidemiology and Laboratory Research received an alert of two suspected human rabies deaths. They, with assistance from Ministry of Agriculture and Christian Veterinary Mission, conducted a case investigation on July 1, 2016. Both suspected cases were bitten by dogs and developed signs consistent with rabies and died; the first during the week of May 25 and the second during the week of June 19. Both were clinically consistent with the World Health Organization's clinical case definition for rabies. A shirt from the man who died in late June was located and submitted to the national veterinary laboratory for molecular detection. Four samples were obtained from the shirt in locations in which there appeared to be saliva staining. One section was negative for rabies virus RNA, two were indeterminate, and one sample had a CT value

of 36 and beta actin of 28. The positive CT value is in the range (average Ct of 33) for the saliva samples of 3 previously confirmed ante-mortem human rabies cases diagnosed at CDC in 2015. This represents the first diagnostic confirmation of human rabies in Haiti in 15 years and the first human rabies diagnosis using modern diagnostic methods. Diagnostic confirmation has been difficult in Haiti due to limited medical infrastructure and a cultural aversion to autopsies, which are required for confirmation by the DFA test. The real-time RT-PCR assays make it possible to test additional sample types and utilizes a sample preservation buffer to improve the storage of clinical samples. This also represents the first time a human rabies case was diagnosed using a fomite. Particularly impressive, the diagnostic method was able to detect rabies virus RNA from saliva on a shirt that had been at room temperature for >10 days. This case provided a good example for the utility of a real-time RT-PCR assay for the diagnosis of human rabies in countries that lack the ability to collect brain samples or perform the DFA test.



HIGH SUSCEPTIBILITY OF LIVESTOCK TO ENDEMIC RABIES IN PAKISTAN

Haider MS¹, Qureshi ZA²

¹ Institute of Agricultural sciences, University of the Punjab, Lahore, Pakistan.

² Veterinary Research Institute, Lahore, Pakistan.

Corresponding: Zaheer Hussain

E-mail: zaheersbs@gmail.com

Rabies is not among notifiable diseases in Pakistan and true burden of disease is unknown. Estimates show 2000 to 5000 human deaths due to rabies in Pakistan but no serious effort has been implemented to know rabies in animals which have greater exposure to rabid dogs. Our several studies show that rabies cases in animals take place in cluster and in such incidents usually more than one animals are affected. In one of such study, two rabies suspected buffaloes brain samples were submitted for diagnosis of rabies from a farm located in vicinity of Okara, Pakistan. The samples were found positive through reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and later rabies virus was isolated through mice inoculation test. Antirabies vaccination was recommended for exposed animals. Four days post vaccination, three more animals developed the signs similar to rabies. The saliva, milk and urine samples of animals were collected and subjected to RT-PCR for ante-mortem diagnosis of rabies. The saliva samples showed the presence of rabies virus RNA. A 440 bp fragment of nucleoprotein gene (N) of rabies virus from all samples was amplified and sequenced. The sequence comparison and phylogenetic analysis revealed that they were similar and all the animals acquired rabies virus from a common source. After the death of these five precious animals, no more case was recorded. The case clearly indicates the negligence on the livestock farmer part who did not bother to get his animals vaccinated when a pack of dogs bit them. The lives of these animals may be saved by timely anti-rabies vaccination. Furthermore, we suggest that those farmers who keep their livestock in rabies endemic areas like Pakistan in

wild without protective boundary wall should go for pre exposure anti-rabies vaccine. The cost of vaccine which ranges from \$ 3 to \$ 9 is 200 folds lower than the cost of animal. Furthermore, it is the duty of Government officials to educate farmers what to do immediately when dog or some other wild carnivore bite their animals.



IMPORTANCIA DOS CANÍDEOS SILVESTERES NA EPIDEMIOLOGIA DA RAIVA NO ESTADO DO CEARÁ, NORDESTE, BRASIL - 2003 A 2013

Duarte NFH^{1,2}, Almeida CP³, Negreiros JA¹, Duarte BH⁴, Santos LJM⁴, Garcia MHO¹, Oliveira RP¹, Melo IMLA¹, Franco ICFL¹, Araújo DB⁵, Favoretto SR^{5,6}, Rocha MFG², Sidrim JJC², Cordeiro RA²

¹ Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

² Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

³ Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

⁴ Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, Brasil

⁵ Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

⁶ Instituto Pasteur de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Correspondente Nayle Francelino Holanda Duarte

E-mail: nayle.holanda@gmail.com

No estado do Ceará, Nordeste do Brasil, a raiva silvestre ainda é considerada um grave problema de saúde pública, devido à grande diversidade de reservatórios com registros de circulação viral, principalmente em espécies silvestres mantidas em proximidade com os seres humanos. O objetivo do presente estudo foi analisar os registros de casos de raiva em canídeos silvestres ocorridos no estado do Ceará entre 2003 e 2013 e caracterizar o perfil epidemiológico das agressões e atendimento antirrábico humano pós-exposição. Foi feito um estudo retrospectivo, a partir de dados consolidados pela Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, no âmbito do Núcleo de Vetores (NUVET). No período estudado foram investigadas 11.859 amostras; um total de 438 (3,69%) foi positivo para a raiva, através das provas de imunofluorescência direta e prova biológica, sendo 107 (24,42%) de cães, 105 (23,97%) de canídeos silvestres, 91 (20,77%) de bovinos, 56 (12,78%) de saguis, 38 (8,67%) de morcegos, 30 (6,84%) de outras espécies (animais de produção e outros silvestres) e 11 (2,51%) de gatos. Do total de 317 amostras de canídeos silvestres analisadas, 105 (33,12%) foram positivas. De acordo com os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) foram registrados 219.504 agressões a seres humanos, sendo o cão o principal

agressor, com 154.574 (70,41%), felina 50.524 (23,01%), outras espécies com 7.206 (3,28%), saguis 3.672 (1,67%), canídeos silvestres 1.925 (0,87%), morcegos 1.147 (0,52%) e bovinos 458 (0,20%). As agressões a humanos por canídeos silvestres ocorreram em 176 municípios, e os pacientes do sexo masculino foram as principais vítimas de mordeduras profundas nos membros inferiores, seguidos de mãos e pés, com idade entre 35 a 49 e de 50 a 64 anos. A recomendação de tratamento pós-exposição foi prescrito em todos os casos. De acordo com o esquema para profilaxia da raiva humana, do Ministério da saúde, todos os pacientes deveriam ter sido tratados com soro e vacina, porém, somente 67,53% dos envolvidos receberam o tratamento adequado. Assim, conclui-se que os canídeos silvestres se apresentam como o principal reservatório silvestre para o vírus da raiva no estado do Ceará no período estudado, além disso, as medidas de vigilância destinadas às pessoas agredidas devem ser implementadas e padronizadas, garantindo assim uma profilaxia correta e em tempo oportuno, complementando com ações educativas, evitando assim que seres humanos desenvolvam a doença.

Palavras-chave: Raiva. Epidemiologia. Canídeos silvestres.



LECTIN AFFINITY CHROMATOGRAPHY FOR EFFICIENT RABIES VIRUS GLYCOPROTEIN PURIFICATION

Silva SR, Ferreira JS and Katz ISS

Corresponding: Sandriana dos Ramos Silva

E-mail: sandrianabr@gmail.com

Rabies lyssavirus glycoprotein (RABVG) is responsible for the recognition of specific cell surface receptors and induces the production of neutralizing antibodies (VNA). Since RABVG is a glycoprotein, this study to evaluate concanavalin A (ConA) chromatography process, which harnessed the possible affinity interaction between RABV G and Con A, for simple and effective purification method. For this, BHK-21 cells grown in MEM supplemented with 10% FCS in flasks of 150 cm², and were infected with Rabies lyssavirus (CVS strain /DICC 100). After cell infection, a virus titer of 2,35 x 10¹¹ FFU/ml was obtained. Rabies lyssavirus was recovered by (NH₄)₂SO₄ precipitation and subsequent centrifugation at 1000 x g for 30 min, following by RABVG solubilized using CHAPS detergent. The purity and identification of protein obtained was analyzed by SDS-PAGE, ELISA and lectin-binding assay, this last test using the following biotinylated lectins: Sambucu nigra, Ulex europeaus, Lens culinaris, Maackia amurensis, ConA and Erytrina cristagali. As results, we observed that protein purified reveled a molecular mass of 65 KDa and the presence carbohydrate (sialic acid, fructose, galactose, mannose and fucose), addition was recognized by polyclonal antibodies produced against Rabies lyssavirus. These data suggest that ConA affinity chromatography is an efficient method for the isolation of enveloped-virus glycoproteins. Future studies are necessary to analyses if the RABVG purified conserved most of its native properties and conformation with perspective for rabies diagnosis.



METAGENOMIC TO ACESS THE VIRAL DIVERSITY IN FREE BATS OF PARANÁ, BRAZIL

Batista, HBCR¹. Finoketti F². Santos RN². Campos AAS^{2,3}. Fernandes MES¹. Gregório ANF¹. Delanira D⁴. Werneck G⁴. Hortêncio Filho H⁴. Roehe PM². Franco AC²

¹- Instituto Pasteur – São Paulo-SP, Brasil

²- Instituto de Ciências Básicas da Saúde / Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, Brasil

³- Centro estadual de vigilância em saúde do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, Brasil

⁴- Grupo de Estudos em Ecologia de Mamíferos e Educação Ambiental- Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, Brasil

Corresponding: Helena Beatriz de Carvalho Ruthner Batista

E-mail: batistahbcr@gmail.com

Bats, order Chiroptera, include greater than 20% of living mammalian species with more than 1100 species across 17 families. The species *Sturnira lilium* (SL) and *Artibeus lituratus* (AL) are bats in the Phyllostomidae family, widely distributed in Latin America. Bats are being progressively accepted as a significant reservoir of zoonotic viruses, like as rabies virus. Insufficiently knowledge about the variety, the quantity and incidence of viruses was observed, however metagenomics that can be increase the knowledge about viruses in bats. The aim of this study was analyze the data of virome of two species of free bats. Oral and anal swab samples were collected in pools of each specie. The pools were filtered to 0.45 µM and ultracentrifuged at 33 000 xg for 3 h at 4° C. The viral pellet was resuspended in saline buffer and treated with 100 U of DNase and RNase 100 U to remove nucleic acids free. After, the virus, protected by capsids, were lysed and the genetic material extracted with phenol/chloroform and trizol reagent, DNA and cDNA were amplified randomly. The PCR products were used for construction of genomic library and pair-end sequencing Illumina sequencing technology. The reads were assembly to Spades 3.6 and analyzed in Blast2Go. After, the contigs with blast hit from blastn, tblastn and blastx were export to Geneious for accuracy analysis. The preliminary analyses of sequences have been identified morbillivirus-like

(588 bp), adenovirus (385bp), parvovirus (512 bp), papilomavirus (366 bp) endogenous retroviruses (510 bp) and many phages in these samples, rabies virus was not identified in any sample. This study allowed the identification of viruses of importance in public health that may be circulating in bats. Access to viral diversity of these species, allows to improve the knowledge and strengthen studies. Further, the viruses found will be amplified, in order to obtain larger sequences for phylogenetic analysis. This study concludes, based on preliminary data that the metagenomics is a tool to access the viral diversity in bats, still poorly unknown.

Keywords: viruses, metagenomic and virome.



MORCEGOS HEMATOFOGOS NO CERRADO LESTE MARANHENSE. AUSÊNCIA OU PRESENÇA DO VÍRUS RÁBICO?

BARROS MC^{1,2}; CARDOSO FHS²; SANTANA SS³; LIMA ACS²; COSTA CLS²; FRAGA EC^{1,2}

¹ Curso de Mestrado em Biodiversidade, Ambiente e Saúde. Universidade Estado do Maranhão, Centro de Estudos Superiores de Caxias, Praça Duque de Caxias, S/N. Morro do Alecrim, 65604380, Caxias, Maranhão, Brasil.

² Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Estado do Maranhão, Centro de Estudos Superiores de Caxias, Praça Duque de Caxias, S/N. Morro do Alecrim, 65604380, Caxias, Maranhão, Brasil.

³ Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão – AGED/MA

Correspondente Maria Claudene Barros

E-mail: mbdene@yahoo.com.br

A raiva é uma doença infectocontagiosa aguda, caracterizada por um quadro de sintomas de patologia neurológica, que evolui ao óbito em poucos dias. Esta doença apresenta dois ciclos básicos de transmissão: (1) a urbana, onde os principais reservatórios dos vírus são os cães e gatos (hospedeiros naturais) e (2) a silvestre, que acomete morcegos, macacos e raposas (Ministério da Saúde, 2009). Os prejuízos socioeconômicos decorrentes desta enfermidade, bem como, os riscos à saúde pública têm exigido dos governos e criadores ações concretas no combate ao morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Geoffroy) principal transmissor da raiva parálitica dos herbívoros. Nos anos de 2013, 2014 e 2015 têm sido registrados casos positivos de raiva em bovinos transmitido por morcego no estado do Maranhão em vários municípios tornando a vacinação obrigatória na maioria desses. Em 2015, no município de Caxias foi registrado caso de raiva em bovinos. Portanto objetivou-se neste estudo verificar a ocorrência de circulação do vírus rábico nos morcegos hematófagos no cerrado leste maranhense, Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, município de Caxias/MA. Para tanto realizou-se coletas na APA do Inhamum no biênio 2014/2015, os morcegos hematófagos coletados foram levados ao laboratório do CESC/UEMA onde ocorreu a retirada do encéfalo para

diagnostico pela técnica de imunofluorescência direta (IFD). Foram coletados neste estudo 26 espécimes pertencentes à subfamília Desmodontinae distribuído em dois gêneros e duas espécies: *D. rotundus* (É. Geoffroy, 1810) e *D. youngii* (Jenink, 1893). O resultado foi negativo para todos os espécimes analisados independentemente da espécie, conseqüentemente a negatividade para as espécies analisadas é um forte indicativo que não há circulação do vírus rábico nesta área de estudo, no entanto a vigilância tem que ser mantida, pois no município de Caxias/MA já foi registrado casos positivos em bovinos no ano 2015.

Palavras-chave: Vírus rábico, Inhamum e Hematófago.



PERFIL DA OCORRÊNCIA DE RAIVA ANIMAL EM DIFERENTES ESPÉCIES NO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL, DE 2002 A 2011

Silva GCP^{1*}, Santos RF¹, Reis VGL², Rocha SM³, Santos GR¹, Godoy HP¹, Mathias LA¹, Nociti DLP⁴

¹ - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal-SP, Brasil.

² - Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, Cuiabá-MT, Brasil.

³ - Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília-DF, Brasil.

⁴ - Departamento de Clínica Médica Veterinária (CLIMVET), Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, Brasil.

Correspondente Glaucenyra Cecília Silva

E-mail: glaucenyracecilia@gmail.com

A raiva é uma zoonose de grande importância econômica e para a saúde pública na América Latina, devido a sua letalidade próxima de 100%. É considerada endêmica em herbívoros de diversas regiões do Brasil, ocasionando perdas significativas no agronegócio. A implementação de medidas de vigilância epidemiológica para a realização do controle da enfermidade é de suma importância, e nos dias atuais, utiliza-se o geoprocessamento como uma ferramenta que permite a manipulação, a espacialização e a visualização dos dados, favorecendo os estudos epidemiológicos, permitindo melhor identificação das áreas de risco. Assim, este estudo teve como objetivo analisar a ocorrência, e a distribuição espacial dos casos de raiva animal, no Estado do Mato Grosso no período de 2002 a 2011. O diagnóstico dos casos de raiva animal do estado foi realizado pelo Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso – INDEA, através do Laboratório de Apoio à Saúde Animal Aníbal Molina – LASA. Os dados foram enviados à Coordenadoria de Vigilância em Saúde Ambiental (COVSAM), pertencente à Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso (SES-MT), com estes dados foi possível a confecção dos mapas com a distribuição da raiva no estado segundo os municípios onde ocorreram as notificações, as espécies acometidas e conseqüentemente, a

identificação das áreas de risco. Foram diagnosticados 915 casos de raiva no estado durante esse período. Animais de diferentes espécies foram acometidos pela enfermidade. A espécie bovina foi notadamente a mais notificada com 80,00% dos casos, seguida pela canina com 12,56%, a equina 5,57%, a quiróptera 0,65%, a felina, suína, ovina e muar com 0,21%, e as espécies caprina e primata com 0,1% cada uma. No entanto, houve uma redução significativa no número de casos caninos. A distribuição dos casos de raiva animal no Estado de Mato Grosso, no período estudado, ocorreu em cerca de 30 dos 141 municípios, não havendo mudanças significativas de um ano para outro, ocorrendo praticamente nos mesmos municípios. Nesse sentido, observou-se que animais de diferentes espécies foram acometidos, evidenciando a circulação viral no Estado de Mato Grosso. Diversos municípios mostraram-se endêmicos para raiva animal na espécie bovina, como, por exemplo, Cáceres, Rondonópolis, Cuiabá, Nossa Senhora do Livramento e Rosário Oeste, que apresentaram notificações por anos seguidos. Não houve tendência significativa para redução ou aumento número de notificações de casos de raiva em bovinos e equinos, no entanto, mostra a presença do vírus circulante e, com isso, a necessidade de instituir uma vigilância para o controle da raiva em herbívoros realmente efetiva, devido, principalmente, à importância econômica que o rebanho bovino de Mato Grosso representa.

Palavras-chave: raiva, herbívoros, cães, quirópteros, Mato Grosso.



PHYLOGEOGRAPHY OF RABIES VIRUS LINEAGES THAT CIRCULATES IN THE DESMODUS ROTUNDUS POPULATION IN AN EPIDEMIC AREA OF THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL

Carnieli Jr P, Castilho JG, Oliveira RN, Macedo CI, Vieira LF, Batista HBCR

Corresponding: Pedro Carnieli Junior

E-mail: pedrocarnielijunior@gmail.com

This summary describes the results of a phylogeographic study using sixty-seven samples of the Rabies virus (RABV) isolated on cattle and that circulates in the *Desmodus rotundus* (vampire bat) population in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. In all Latin America *D. rotundus* is the main reservoir of the RABV. The social structure of the *D. rotundus* is based on a dominance hierarchy, subordinate males are expelled or obliged to travel long distances to feed, so that their feeding area may overlap with those of other colonies, as a result of which they can transmit or be infected with RABV. The phylogeography of RABV has been studied by methods that use the Bayesian Markov Chain Monte Carlo Method (MCMC), a statistical method that tests hypotheses and is available in BEAST package (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees), that allows various evolutionary models to be tested using a set of genetic sequences obtained over time in a geographic area. BEAST returns rooted trees and the dates of the trees of time can be converted into a keyhole markup language (KML) file suitable for viewing with Google Earth to provide a spatial diffusion of the genetic lineages. To generate the BEAST XML input files the GTR+G+4 substitution model (General Time Reversible model with gamma distribution of rate variation among sites and four rate categories) was used with base frequencies estimated. The combination of molecular clock model and tree prior chosen was the relaxed uncorrelated lognormal model with an exponential growth because it resulted in effective sample sizes (ESS) for the likelihood posterior probability. The trees were annotated with

TreeAnnotator program generating the files MCC (maximum clade credibility tree) of time and substitution and were visualized using the FigTree program. The phylogenetic tree time (MCC.time) was added with the coordinates of the cities where the RABV samples were isolated. After 30,000,000 steps the MCC.time file was converted into a KML language for viewing the spatial projection of the diffusion of the genetic lineages with Google Earth. The results of rooted time and substitution trees generated were concordant with each other. In the time tree, the mean chronological distance observed between the most recent lineages and the most common ancestor (TMRCA) was approximately 37 years. Both trees had the same topology and clusters showed no relationship to time and space. The results of the phylogeographic diffusion model using the Google Earth showed a random pattern. That is, the RABV lineages displaced by *D. rotundus* showed a pattern of “comings and goings” between the geographic areas (cities). Probably, the two main results mentioned above are result of great genetic conservation between the set of lineages of the RABV studied herein and the behavior of *D. rotundus*. Other studies should be conducted to confirm or refute the results presented herein.

Grant: Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil.



POST-MARKETING SURVEILLANCE OF HUMAN RABIES DIPLOID CELL VACCINE (IMOVAX) IN THE VACCINE ADVERSE EVENT REPORTING SYSTEM (VAERS) IN THE UNITED STATES, 1990-2015

Petersen BW¹, Moro PL², Lewis P², Cano M²

¹ Poxvirus and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, NCZEID, CDC, Atlanta, Georgia, United States of America,

² Immunization Safety Office, Division of Healthcare Quality Promotion (DHQP), National Center for Zoonotic and Emerging Infectious Diseases (NCZEID), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, United States of America.

Corresponding: Brett Petersen

E-mail: bpetersen@cdc.gov

Despite the successful elimination of canine rabies in the United States, an estimated 40,000 courses of rabies postexposure prophylaxis (PEP) are administered annually. As such, post-licensure monitoring of rabies vaccine used for PEP is critical to confirm the safety of such vaccines and identify rarely occurring adverse events (AEs) that may not have been observed during pre-licensure clinical trials. The Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) is a national vaccine safety surveillance system that receives spontaneous reports (also known as passive surveillance) of AEs following immunization. This study queried the VAERS database for reports of AEs among persons vaccinated with Human Rabies Diploid Cell Vaccine (HDCV, Imovax) from January 1, 1990 to July 31, 2015. Medical records for serious AEs (i.e., death, hospitalization, prolonged hospitalization, disability, life-threatening-illness) were reviewed by physicians and assigned a primary clinical category using Med-DRA system organ classes. VAERS received a total of 1,611 reports of AEs following vaccination with HDCV of which 93 (5.8%) were serious including five deaths. Among all reports, pyrexia (18.2%), headache (17.9%), and nausea (16.5%) were the three most common AEs. Among serious reports, a total of five deaths were reported. Four deaths appeared to be unrelated to vaccination. The cause of death for one case was acute disseminated encephalomyelitis (ADEM); the

possibility that HDCV could have contributed to the condition could not be ruled out. The most frequent AE diagnostic category noted among non-death serious reports was immune system disorders, which accounted for 23 (26.1%) of 88 reports. Sixteen of these reports were hypersensitivity or non-anaphylactic allergic reactions, and seven were reports of anaphylaxis. General disorders and administration site conditions, comprised mainly of constitutional signs and symptoms (e.g., headache, fever), accounted for 21 (23.9%) reports. Nervous system disorders were noted in 18 (20.4%) reports, including GBS (four reports) and seizures (three reports). In summary, this study is the first review of all AEs reported to VAERS since HDCV was licensed more than 30 years ago. Injection site reactions, hypersensitivity reactions, and non-specific constitutional symptoms were most frequently reported, similar to findings in pre-licensure studies. No new or unexpected AEs after HDCV were identified and the vast majority of AEs were non-serious.



PREVALÊNCIA DE RAIVA E PERFIL TAXONÔMICO EM MORCEGOS PROCEDENTES DO ESTADO DO PARÁ NO PERÍODO DE 2005–2011

Armando de Souza Pereira¹, Livia Medeiros Neves Casseb¹, Taciana Fernandes Souza Barbosa¹, Alberto Lopes Begot², Roberto Messias Oliveira Brito³, Pedro Fernando da Costa Vasconcelos¹ e Elizabeth Salbê Travassos da Rosa¹

¹ Instituto Evandro Chagas SVS/MS, Ananindeua, PA, Brasil.

² Núcleo de Doenças Endêmicas do Estado do Pará/SESPA, Belém, PA, Brasil.

³ Centro de Controle de Zoonoses/SESMA, Belém, PA, Brasil.

Correspondente Armando Souza Pereira

E-mail: armandopereira@iec.pa.gov.br

A Raiva é uma infecção viral aguda, progressiva e de evolução fatal praticamente para todos os casos, causada por um vírus da família Rhabdoviridae, gênero Lyssavirus, que ocorre de maneira endêmica em diversos países do mundo e tem como hospedeiros, reservatórios e transmissores, mamíferos silvestres ou domésticos, que ocasionalmente podem transmitir a doença ao homem. No Brasil, em algumas áreas urbanas, os cães são considerados a principal fonte de infecção do vírus da Raiva (VRab), entretanto, morcegos hematófagos e não hematófagos são seus reservatórios naturais no ambiente silvestre, representando nos últimos anos emergente problema de saúde pública, devido epidemias dessa doença transmitida por morcegos hematófagos. Com o objetivo de determinar a prevalência da raiva em morcegos, com identificação das cepas isoladas e o perfil taxonômico dos quirópteros, considerando os dados de identificação taxonômica e diagnóstico laboratorial da raiva em espécimes biológicos recebidos no Instituto Evandro Chagas, no período de 2005 a 2011, oriundos do Estado do Pará, foram analisados os resultados obtidos pelas técnicas de Imunofluorescência Direta e Prova Biológica de 3.100 morcegos, após serem devidamente identificados os táxons segundo recomendações de Vizzoto & Taddei (1973). Dos 143 municípios pertencentes às mesorregiões do Pará, 97 encaminharam morcegos para exame, os quais foram classificados em sete famílias, 43 gêneros e 79 espécies, distribuídos

em sete guildas distintas, obtendo-se o reconhecimento de novos táxons. Do total de morcegos examinados, em 12 (0,39%) foi detectado o VRab (sete hematófagos, três frugívoros e dois insetívoros), nestes, onze foram caracterizados como VAg3 e um não mostrou perfil de leitura compatível com o previamente estabelecido para estudar a epidemiologia molecular do VRab nas Américas, pela técnica de Imunofluorescência Indireta com o painel de anticorpos monoclonais produzidos e cedidos pelo CDC/Atlanta, EUA. Os resultados permitem concluir que há necessidade de maior intensificação na vigilância epidemiológica em municípios silenciosos, o reconhecimento de novas espécies de morcegos para o Estado do Pará, presença do VRab em morcegos de diferentes hábitos alimentares e de ambientes, caracterizando o ciclo entre hematófagos e não hematófagos, predominância da VAg3 e necessidade de medidas profiláticas da doença em áreas onde pode ocorrer agressão de humanos por morcegos hematófagos.

Palavras-chave: vírus da Raiva. Morcegos. Estado do Pará.



PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO DE VACINA ANTIRRÁBICA INATIVADA PARA CÃES E GATOS UTILIZANDO MEIO DE CULTURA LIVRE DE SORO

Sanson RK¹, Zeferino AS¹, Nakamura R¹, Salomão JC¹, Felix JC¹, Soccol CR², Soccol VT²

¹Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR - Curitiba/Paraná/Brasil

²Pós-graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia UFPR - Brasil

Correspondente: Raquel Koehler Sanson

E-mail: rsanson@tecpa.br

A tecnologia de produção de vacina antirrábica veterinária em cultivo celular, na qual adiciona-se soro bovino ao meio de cultura é amplamente difundida e utilizada. O soro fornece diferentes componentes para o crescimento celular, porém, sua suplementação ao meio de cultivo pode ser um risco potencial por possibilitar a incorporação de agentes adventícios como vírus, príons e micoplasmas. Pode, também, causar reação adversa quando a vacina preparada é destinada à espécie diferente daquela da origem do soro. Com objetivo de minimizar estes riscos, o soro animal tem sido substituído por outros componentes na formulação do meio de cultura. No presente estudo, células BHK-21 C13 (Baby Hamster Kidney- clone 13) adaptadas à suspensão em meio de cultura DMEM:F12 suplementado com 3% de soro fetal bovino (Meio de Cultivo Padrão, MCP) foram adaptadas ao crescimento em três meios de cultura livres de soro: VP-SFM™ (Gibco – Invitrogen Cell Culture), Ex-Cell 302® (SAFC Biosciences) e Cellvento BHK-200™ (Merck Millipore). As células adaptaram-se ao VP-SFM™ e ao Ex-Cell 302® por substituição direta de 100% do meio de cultura padrão pelo meio livre de soro, também adaptaram-se ao Ex-Cell 302® pelo protocolo de substituição gradativa do meio de cultura. Já a adaptação ao meio Cellvento BHK-200™ ocorreu somente após as células serem previamente adaptadas ao meio VP-SFM™. As células adaptadas nos meios de cultura livre de soro foram cultivadas em frascos tipo spinner (Techne) sob agitação de 55 rpm a 37°C. Quando atingiram densidade superior a 1,0x10⁶ células/mL foram infectadas com vírus rábico PV (Pasteur

Virus) numa multiplicidade de infecção (MOI) de 0,015 e incubadas 33°C sob a mesma velocidade de agitação. Diariamente, durante seis dias, foram realizadas trocas de 50% do volume dos meios infectados por meio fresco. A viabilidade do cultivo foi monitorada e a infecção das células foi avaliada por meio de imunofluorescência direta. As coletas diárias foram tituladas pelo método CIT (cell infection titration) e monitoradas concentrações de glicose, lactato e pH. Todas as células adaptadas apresentaram concentração viral suficiente para produção de vacina, sendo que nos meios Ex-Cell 302® e VP-SFM™, os resultados foram semelhantes ao encontrado no meio MCP, com títulos máximos de 106,24 FFD50/mL, 106,56 FFD50/mL e 106,14 FFD50/mL, respectivamente. O meio Cellvento BHK-200™, apresentou título máximo de 105,54 FFD50/mL, menor que os títulos obtidos nos demais meios. As coletas virais foram inativadas com β-propiolactona, formuladas com hidróxido de alumínio e timerosal. A potência antigênica de todas as vacinas formuladas foi confirmada pelo método de NIH. Os resultados obtidos comprovam que os meios de cultivo livre de soro testados podem ser utilizados para a produção de vacina antirrábica veterinária.



QUIRÓPTEROS NÃO HEMATÓFAGOS: UMA EPIZOOTIA DE RAIVA EM ZONA URBANA

Lima FMG¹, Santos JZ¹, Duarte NFH^{1,3}, Maciel MLS², Maia KM², Rodrigues VC¹, Lima MFC¹, Chaves CS¹, Franco ICF¹

Correspondente Fabíola Maria de Girão Lima

E-mail: biulagirao@gmail.com

Esta pesquisa descreve uma epizootia de raiva em quirópteros não hematófagos, no primeiro semestre de 2016, na zona urbana de Tabuleiro do Norte-Ce, Brasil. O estudo desenvolveu-se a partir de amostras positivas para o vírus da raiva, diagnosticadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública-CE (LACEN). Realizou-se investigação epidemiológica sobre agressões a humanos e animais; visitas aos locais de coleta dos quirópteros encaminhados ao laboratório; busca, localização e monitoramento da colônia infectada. Fez-se o georreferenciamento dos pontos de captura dos quirópteros positivos para raiva com GPS e auxílio do programa GPS TackMaker. De fevereiro a junho de 2016 Tabuleiro do Norte encaminhou para o LACEN, 35 quirópteros suspeitos de raiva; destes 12 (34,28%) foram positivos. Os exemplares foram coletados em residências urbanas de bairros contíguos, em atitude e locais não habituais. Moradores avisaram aos agentes de controle de endemias(ACE) sobre os espécimes caídos em calçadas e dentro de casa, a maioria ainda vivo. Foram coletadas e encaminhadas amostras ao LACEN para diagnóstico de raiva. Os laudos informaram que todos os quirópteros pertenciam a Família Molossidae. A cada quiróptero positivo, fazia-se a investigação epidemiológica, por meio de visita domiciliar. Constatou-se duas pessoas agredidas que fizeram a profilaxia. Não houve relato de cães e gatos agredidos, mas o Município realizou primovacinação em 236 cães e 256 gatos. Nos primeiros diagnósticos de raiva, profissionais de saúde do Estado e Município intensificaram as ações de vigilância. Capacitou-se equipes da atenção básica nas Normas de Profilaxia da Raiva Humana. Elaborou-se panfletos distribuídos por agentes comunitários

de saúde(ACS) e ACE. Divulgou-se sobre a vigilância e prevenção da raiva em programas de rádio e câmara de vereadores. A Secretaria Municipal de Agricultura foi alertada para a circulação do vírus. Encontrou-se a colônia suspeita em um apartamento onde havia carcaças de quirópteros mortos e animais vivos alojados. Profissionais estiveram no local e coletaram 64 carcaças, uma delas com indícios de morte recente teve diagnóstico positivo para raiva. Buscando mapear a distância entre os pontos onde os quirópteros caíram e a colônia infectada, levantou-se coordenadas geográficas. É possível dizer que os quirópteros infectados encontrados caídos podem fazer parte de uma única colônia ou pertencerem a várias outras colônias doentes. O trabalho de monitoramento e a vigilância devem continuar para elucidar a questão. O estudo mostra o risco de transmissão acidental da raiva por quirópteros para humanos, cães e gatos. Acenou para o trabalho de vigilância em raiva silvestre realizado pelo município. O alto risco advindo da epizootia descrita exige estudos aprofundados, conhecimento das espécies dos quirópteros envolvidos e seus hábitos para esclarecer o processo de transmissão da raiva silvestre nesta epizootia.



RABIES IN EQUINES: COULD INDIRECT RAPID IMMUNOHISTOCHEMISTRY TEST CONTRIBUTE TO THE DIAGNOSIS?

Bezerra R, Nogi KI¹, Achkar S¹, Fernandes ER¹, Guedes F¹

¹ Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

Corresponding: Ranieli Bezerra

E-mail: rani_bezerra@yahoo.com.br

In South America, rabies can be transmitted by vampire bats, *Desmodus rotundus*, so that cattle and horses are the species most affected. In the equine species, clinical diagnosis of rabies is difficult, thus, laboratorial diagnosis is very important to confirm suspected cases. Direct Fluorescent Antibody Test (DFAT) is the gold standard and, even though it is highly sensible, accurate and fast, false negatives results can occur. So it is necessary to use other complementary techniques to ensure corrects results. This study aimed to employ the indirect rapid immunohistochemistry test (IRIT) for the detection of rabies virus antigen. For this purpose, twenty-four frozen samples of central nervous system (CNS) from equines suspected of rabies infection that had died or been euthanized were used. The animal samples were processed in the Virology and the Immunohistochemistry Laboratories of Instituto Pasteur, São Paulo, Brazil. The use of samples for this research was approved by the Ethics Committee on Animal Use (Instituto Pasteur, São Paulo, Brazil). Whenever possible, samples were collected from the cortex, hippocampus, cerebellum and brainstem. From these fragments were prepared touch impression in glass microscope slides which were fixed in 10% buffered formalin. As a primary antibody, a polyclonal mouse anti-rabies virus (Instituto Evandro Chagas, Pará, Brazil) was used, followed by incubations with EnVision system based in dextran polymer conjugate with horseradish peroxidase. Negative controls were included in parallel slides from CNS processed as described above, however, omitting the primary antibody. All samples were previously processed for the DFAT. It was established as a criteria for reading the slides of IRIT the fact that

the results obtained by DFAT were not known by the professional responsible for the interpretation of the IRIT. Of the 24 samples, 8 were positive and 9 negative for rabies virus antigen by both methodologies. Seven were positive only by IRIT, which were confirmed by the genetic sequencing of the virus. In (3/8) positive samples by both techniques, we observed that the distribution of rabies virus antigen in the brain varied among fragments. While by IRIT positive signal was detected in all fragments studied, the DFAT positivity was often observed in the brainstem and it was absent in the cortex and cerebellum. Our partial results suggest that indirect rapid immunohistochemistry test could be applied to rabies diagnostic in equines, especially when the DFAT result is negative and/or inconclusive, besides, it has been shown that this methodology can corroborate as it allows the detection of viral antigen in different fragments, which often is not observed by the DFAT, mainly when the brainstem of equines is not sent to the diagnostic laboratory.



RABIES LYSSAVIRUS ISOLATES FROM BRAZILIAN DIFFERENT RESERVOIRS SPECIES PRESENT DISTINCT PATTERN OF PROPAGATION IN N2A CELL

Costa BM ¹, Fuoco NL ¹, Chaves LB ¹, Rodrigues AC ¹, Ribeiro OG ², Scheffer KC ¹, Katz ISS ¹.

¹ Laboratório de Diagnóstico da Raiva, Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

² Laboratório de Imunogenética, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil.

Corresponding: Luciana Botelho Chaves

E-mail: lbchaves@pasteur.saude.sp.gov.br

Rabies cell culture infection test was developed for the isolation of Rabies lyssavirus and as an alternative for the mouse inoculation test. However, tissue culture for street rabies strains produces low viral titer. Here, we assessed the quantity of brain tissue for successful viral isolation toward increased virus titer in effective way. Brain tissue isolates from different reservoirs species of Brazil were harvested in different concentration and inoculated in N2a cells. These isolates were measured infectious viral titer and cell viability. Inoculum containing 20% brain tissue (w/v) were prominent for Rabies lyssavirus infection due to higher viral titer and not significantly dead cell. After consecutive passages in N2a cells Rabies lyssavirus variant maintained by vampire bat had remarkable adaptation to the culture system, while isolates from marmoset presents distinct pattern of propagation in N2a cell when compared with other groups. Based on these results, the isolation followed by viral replication assay may be used in isolates from different reservoirs which enable amplification of the wild type virus strains. Financial support: Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil.



RAIVA NO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE, RS, BRASIL: 2012 A 2015

Rosa JCA¹, Ferreira JC¹, Pacheco SM²

¹ Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desiderio Finamor” - IPVDF - Eldorado do Sul/RS, Brasil

² Instituto Sauver - Porto Alegre/RS, Brasil

Correspondente Julio César de Almeida Rosa

E-mail: julio-rosa@fepagro.rs.gov.br

A raiva é uma zoonose transmitida por vírus pertencente à família Rhabdoviridae, gênero Lyssavirus e tem como as principais formas de transmissão a mordedura, lambedura e/ou arranhadura de animal infectado. O presente trabalho tem por objetivo apresentar os resultados dos exames para raiva em amostras oriundas do município de Porto Alegre (POA), capital do Estado do Rio Grande do Sul (RS), entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015. O estudo foi realizado a partir dos exames executados entre 2012 e 2015 no Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desiderio Finamor” (IPVDF), referência no RS para diagnóstico desta enfermidade. Todas as amostras foram submetidas às técnicas de imunofluorescência direta (IFD), utilizando-se o conjugado antirrábico produzido pelo Instituto Pasteur, São Paulo e prova biológica com inoculação em camundongos lactentes. As amostras foram coletadas e encaminhadas ao IPVDF, principalmente, por meio das Unidades de Saúde e Agricultura. Das 478 amostras remetidas ao laboratório, 18 (3,7%) foram positivas para o vírus da raiva, sendo 07 morcegos insetívoros procedentes da área urbana e 11 herbívoros (02 equinos e 09 bovinos) da zona rural do município de POA. A ocorrência de casos de raiva em morcegos insetívoros, equinos e bovinos, caracterizam a circulação do vírus da raiva no município de POA. Monitorar e controlar essa zoonose nas diferentes espécies animais é um desafio e o laboratório de diagnóstico da raiva do IPVDF tem um papel fundamental nesse momento de vigilância.



RAIVA SILVESTRE: RAPOSA (CANÍDEO) COM VÍRUS POSITIVO NO MUNICÍPIO DE LIMOEIRO DO NORTE CE

Lima MFC¹, Chaves CS¹, Lima FMG¹, Peixoto VMMR¹, Rodrigues VC¹

¹10ª Coordenadoria Regional de Saúde de Limoeiro do Norte, Secretaria da Saúde do Estado do Ceará

Correspondente Maria de Fátima Costa Lima

E-mail: fatima.costa@saude.ce.gov.br

A raiva silvestre tem relevância por ser uma doença que não tem tratamento para a cura, mas com característica de evolução para o óbito. Para que não haja casos positivos notificados em humanos, devem ser implantadas as medidas de promoção a saúde para evitar um perfil epidemiológico para a zoonose (GOMES, 2012). Este trabalho consiste em relatar agressão da raposa (canídeo) a um humano, com a confirmação do vírus positivo da raiva no animal. O relato retrata a agressão da raposa (canídeo), em março 2016, no município de Limoeiro do Norte/ CE. A vítima, E. M. S., 81 anos, relatou que foi atacada por uma raposa. O acidente aconteceu no terreno em frente a sua residência, enquanto apanhava uma porção de areia no chão, e o referido animal a atacou, mordendo no braço e joelho. Durante o ataque a vítima segurou o pescoço do animal, dominando-o, até que sua filha soltou o cão de guarda da família que brigou e matou a raposa. A vítima procurou o hospital do município, onde realizou o tratamento com vacina e soro antirrábico, e teve seu atendimento notificado no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN. Foi enviado ao Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN, amostra da medula do animal, que atestou positivo para raiva pelos exames de Imunofluorescência Direta (IFD) e Prova Biológica. Assim, a Secretaria Municipal da Saúde providenciou a vacinação antirrábica dos cães e gatos da localidade. Os três cães da família da vítima são vacinados, e o cão agredido pela raposa, já havia recebido mais de duas doses nas campanhas municipais. Com esse fato, contabilizou-se 57 cães e 20 gatos vacinados na área da agressão pelo animal silvestre. Por consequência do episódio da

agressão, técnico da Secretária da Saúde do Estado do Ceará reuniu-se com os agentes comunitários de saúde da Unidade Básica de Saúde da área da agressão, para esclarecer e informar sobre as condutas da raiva em humanos e animais. O município no período de janeiro a julho de 2016, apresentou no SINAN, o quantitativo de seres humanos agredidos pelas seguintes espécies: 95 por caninos, 77 por felinos, dois por quiróptera (morcegos), três primatas (macacos), um raposa, um herbívoro doméstico e dois outros, totalizando 181 seres humanos agredidos por uma variedade de espécies animais. No mesmo período, em decorrência as agressões em humanos, foi notificado no Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial – GAL, o envio de 21 amostras para o LACEN, dos seguintes animais: dois caninos, um felino, 16 morcegos e duas raposas. Após a análise laboratorial, obteve-se os seguintes resultados positivos: um morcego e a raposa agressora a pessoa em março. A raiva animal tem destaque com as agressões por meio dos animais silvestres. Isso requer uma vigilância permanente para os diferentes componentes da cadeia de transmissão da doença, por haver transmissões de animais silvestres para o animais domésticos.



RECOMBINANT RABIES VIRUS GLYCOPROTEIN IMMUNIZATION IN HOMOLOGOUS OR HETEROLOGOUS PRIME-BOOST STRATEGY INDUCES NEUTRALIZING ANTIBODIES AND PROTECTS MICE AGAINST CHALLENGE WITH RABIES VIRUS

Rocca MP¹, Astray RM¹, Suárez SF¹, Menozzi BD², Langoni H², Chaves LB³, Katz ISS³, Guedes F³, Almeida E³, Pereira CA¹

¹ Laboratório de Imunologia Viral, Instituto Butantan, Brazil

² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Depto. Higiene Veterinária e Saúde Pública, UNESP- Botucatu, Brazil.

³ Instituto Pasteur, São Paulo, Brazil.

Corresponding: Luciana Botelho Chaves

E-mail: lbchaves@pasteur.saude.sp.gov.br

Rabies is a fatal zoonotic viral disease that affects several species of mammals. The virus is transmitted to humans mainly by rabid dogs, causing at least 55,000 human deaths each year. Mass vaccination of dogs has been the mainstay of successful canine rabies control. The rabies virus glycoprotein is the antigen responsible for the induction of neutralizing antibodies by the host immune system, protecting it against viral infection. We have expressed a recombinant rabies virus glycoprotein (RVGP) in *Drosophila melanogaster* S2 cells and by in vivo expression mediated by Semliki Forest virus (SFV). In this work we have studied the utilization of RVGP and SFV-RVGP in homologous and heterologous prime-boost strategies. For immunization studies, RVGP was expressed by S2MtRVGP-H and quantified by ELISA (Institut Pasteur, Paris). Recombinant SFV-RVGP were obtained by classical methodology and quantified by RT-qPCR. The amount of SFV-RVGP (8.7 x 10⁶ particles) able to generate 1.0 µg of RVGP in 24 hours of infection in BHK-21 cells was accessed by in vitro assays and established as the dose for immunization. Mice were divided into 7 groups (n = 5) and immunized with RVGP in monomeric or trimeric form (1.0 µg RVGP / dose), with SFV-RVGP, saline (negative control), or commercial vaccine (positive control) by intraperitoneal route.

The vaccination schedule comprised prime and two booster doses at 7 and 14 days after the first dose. One week after the last booster, every group was challenged with an intracranial dose of 30 LD50 fixed rabies virus sample CVS. Serum samples collected before and after challenge were evaluated for the total anti-RVGP antibodies titer by ELISA (Platelia), for specific anti-RVGP IgG2a/IgG1 ratio, and for neutralizing antibodies titer by RIFFT. Results showed that S2MtRVGP-H achieved high cell densities and expressed RVGP in good quality and quantity (from 8.85 to 12.36 $\mu\text{g}/108$ cells). As expected, the viral vector vaccine was clearly more effective than the protein vaccines in inducing a cellular immune response, as evaluated by the IgG2a/IgG1 ratio. Results of challenge studies show good levels of protection for both vaccine candidates, with high survival rate in the group immunized with the viral vector. Mice immunized with monomers showed lower antibody titers and protection. Groups immunized with trimeric RVGP or SFV-RVGP showed levels of 79.8 and 123.1 UI/mL neutralizing antibodies respectively. These levels are far higher than the level usually considered as protective (0.5 UI/mL). A group immunized with SFV-RVGP as prime dose and with RVGP in two booster doses showed 100 % protection upon challenge and showed good levels of neutralizing antibodies (127.7 UI/mL), showing that the heterologous prime-booster strategy was efficient. The data show that both immunogens were capable of inducing good antibody levels as compared to the optimized commercial veterinary vaccine. Supported by CNPq 402439/2013-9.



RELATO: COMO EVITAR QUIRÓPTEROS EM ESTABELECIMENTOS RURAIS, USANDO TELA MOSQUITEIRA NO BEIRAL

ARRUDA RCN ¹ MESQUITA ETKC ² PEDROSA KYF ²

¹ Fiscal Federal Agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)

² Fiscal Estadual Agropecuário da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED/MA) São Luís - Maranhão - Brasil.

Correspondente Roberto Carlos Negreiros de Arruda

E-mail: rcnegreiros.arruda@gmail.com

Refúgios de morcegos em residências rurais são um problema constante, quando os estabelecimentos não são habitados continuamente. As pessoas têm medo de conviver ou dormir na residência rural, seja pelos voos dos morcegos, além do agravo de ter contato com fezes nas paredes e no chão, ou mesmo, mordedura acidental de morcegos. O objetivo do presente relato, foi demonstrar a instalação de telas mosquiteiras ao redor do beiral de uma residência rural, com material simples e acessível para compra, mesmo em área rural. A instalação é acoplando-se a tela a arame liso nos caibros e ripas de modo a fixar a parte superior no telhado, bem como, ir fixando a parte inferior da tela com uma canaleta, sem deixar área de escape, assim, evitando a entrada de morcegos permanentes, do mesmo modo, mitigar o risco de uma relação passível de disseminação de enfermidades, como a raiva ou contato com fezes, para pessoas com sensibilidade na pele, ou debilitados propensos a problema pulmonar pela histoplasmoze. O resultado deste trabalho manual, foi a promoção de maior lazer aos residentes e visitantes na propriedade rural, consideramos ainda, que essas telas estendidas as portas e janelas, dificultam a transmissão de doenças como dengue, zika, chicungunha e febre amarela, impedindo a entrada e picada de mosquitos.

Palavras-chave: Morcegos, colônias, abrigos, residências abandonadas e telas mosquiteiras.



REPLACEMENT METHOD FOR THE PRODUCTION OF INPUTS USED IN THE DIRECT IMMUNOFLUORESCENCE TECHNIQUE: IN VIVO FOR IN VITRO

Garcia JG¹Achkar SM¹Rodrigues AC¹Freitas FC¹ Scheffer KC¹ Fahl WO¹ Caporale GMM¹

¹ Instituto Pasteur, São Paulo, Brasil

Corresponding: Graciane Maria Medeiros Caporale

E-mail: graciecaporale@yahoo.com.br

For decades it has been recommended the use of specificity controls for the Fluorescent Antibody Test (FAT) used for the diagnosis in central nervous system (CNS) of animals suspected of infection by rabies virus. CNS suspension of mice infected with the virus CVS (Challenge Virus Standard) is used as diluent for fluorescent conjugate and as specific control of reactions by many laboratories. The need of using this control will depend on the methodology employed for the production of the conjugate, because currently there are highly specific reagents. The use of mice for this purpose is not consistent with the standards for Animal Ethics, which recommends the replacement of in vivo procedures for in vitro, whenever is possible. The aim of this study was to compare the use of CVS virus suspension produced in baby hamster kidney cells, line 21 (BHK-21) and murine neuroblastoma cells (N2A), to replace the use of CNS of mice as test control suspension of IFD. Two virus batches were prepared, and obtained a total volume of 450 mL of supernatant from each batch, being 60 mL for each concentrated on Amico® System, to obtain healthy virus particles. The viral titration was performed in reason 2 by FAT, in culture cells BHK-21 and N2A. After collect the supernatants, cells were lysed to obtain virus proteins. To obtain the diluent from the BHK-21 cells infected and N2A it was used 15 mL of cell lysate and 100 µl of concentrated viral particles. The conjugate against the rabies ribonucleoprotein produced at the Pasteur Institute (IP) with titer of 1:200 was used for the test of FAT. As control diluent was used conjugate diluent standard produced with 20% suspension of CNS of infected mice and diluent prepared from cell culture. The

results obtained after the titer of the virus produced in BHK-21 and N2A, the supernatant collected and after the concentration were 1:512, 1:4096 and 1:32,768, 1:83,886, respectively. It was obtained 100% diluted conjugate neutralization with CNS suspension by the FAT. When used diluents prepared from BHK-21 cells cultures and N2A, it was possible to 100% conjugate neutralization, increasing the diluent concentrations in 2 and 4 times, respectively. Comparing the results obtained with the diluents produced from two cell lines it was found that the performance of viral replication protocol in N2A was better than in BHK-21, although both have been satisfactory. These results demonstrate the viability for the replacement of the currently held in vivo method for in vitro. This methodological innovation meets the standards of Animal Ethics, and shows that there are always paths in science to reduce or eliminate the use of animals when it is possible.



RESERVATÓRIOS SILVESTRES PARA O VÍRUS DA RAIVA, EM MUNICÍPIOS DO CEARÁ NOS ANOS 2013 A 2015: DADOS ORIUNDOS DE VIGILÂNCIA PASSIVA

Peixoto TKF¹, Duarte NFH²³, Filho JVA¹, Franco ICF², Souza AIM¹, Garcia MHO², Oliveira RP², Melo IMLA², Campello MVM¹.

¹ Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, CE, Brasil

² Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

³ Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

Correspondente Isabel Cristina Félix Franco

E-mail: isabel.franco@lacen.ce.gov.br

Nos últimos anos o perfil epidemiológico da raiva animal tem tomado novas vertentes, nesse ponto, os casos de raiva animais silvestres vêm superando a casuística da raiva urbana. Isso devido a eficiência do programa de vigilância da raiva nos animais silvestres. O Ceará possui uma vasta fauna, tendo sido detectado os isolamentos virais em uma série de animais, incluindo quirópteros, carnívoros e primatas não humanos. No nosso estado é pioneiro os casos de raiva humana com transmissão pelo guaxinim (*Procyon cancrivorus*), além de outros como o sagui (*Callithrix jacchus*). No ciclo aéreo, o morcego hematófago (*Desmodus rotundus*) é considerado o principal transmissor do vírus, tanto para outros quirópteros como para os mamíferos terrestres domésticos e silvestres, no entanto, os morcegos não hematófagos vêm ganhando destaque na manutenção do vírus. O trabalho buscou um levantamento de reservatórios silvestres para o vírus da raiva em municípios do Ceará nos anos de 2013 a 2015, com base em dados da vigilância passiva do estado. Para isso, as informações referentes à raiva foram disponibilizadas pelo Núcleo de Vetores (NUVET), através de relatórios procedentes das 02 unidades que realizam diagnóstico da raiva: Laboratório Central (LACEN) e Centro de Controle de Zoonose do Crato (CCZ). A positividade foi confirmada pela imunofluorescência direta (IFD) e a prova biológica com inoculação em camundongos. Foi recolhido um total de 465 amostras de mamíferos silvestres, oriundas de municípios do estado do

Ceará, das quais 36,34% foram coletadas em 2013 (169/465), 26,23% em 2014 (122/465) e 37,41% em 2015 (174/465). O índice de positividade de amostras por ano de coleta foi de 13,61%, 10,66% e 16,67%, para os anos de 2013, 2014 e 2015, respectivamente. Ao todo, 65 amostras apresentaram positividade para o vírus da raiva, representando 13,98% do total de amostras recolhidas. Foi confirmado 24 municípios positivos, correspondendo a 13,04% (24/124) do total de municípios que compõe o estado. A positividade das amostras da ordem Chiroptera, com 52,31%, (34/65), sendo uma amostra de morcego hematófago (*D. rotundus*) e 33 de não hematófagos, superou a das demais, Carnivora 32,31% (21/65) e Primates 15,38% (10/65). Dessa maneira, o presente estudo confirma a existência da raiva entre os mamíferos silvestres, em municípios do Ceará, denotando a importância da vigilância da raiva nesses animais, tendo em vista o risco de transmissão da doença tanto para humanos como animais domésticos.



SAFETY EVALUATION IN CATS AND DOGS OF INACTIVATED VETERINARY RABIES VACCINE PRODUCED USING CELL CULTURE IN PERFUSION SYSTEM

Zeferino AS¹, Correia BL¹, Gimenez APL¹, Scheuer T¹, Martins PFL¹, Salomão JC¹, Felix JC¹, Silva JC¹, Preto AA¹

¹ Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR – Curitiba/Paraná-Brasil

Corresponding: Aurelio Santo Zeferino

E-mail: ausantozef@gmail.com; aurelio@tecpar.br

The immunization of dogs and cats against rabies has been in recent decades the main action to control human rabies in Brazil. Therefore, it must be proven the safety of the vaccine used in these species. TECPAR, main supplier of rabies vaccine for veterinary use to the Ministry of Health, after modifying its productive platform for cell culture, conducted a study to prove the safety of the new vaccine. The vaccine was produced through the infection of BHK-21 C13 cells (Baby Hamster Kidney) with PV virus (Pasteur Virus) in stirred bioreactors (New MBR) with a internal perfusion device. The viral suspensions were inactivated, formulated, filled into flasks and tested according to official tests recommended by national regulatory agency. The safety study was conducted at the Federal Rural University of Rio de Janeiro by the Department of Animal Parasitology, where it was used 110 beagle dogs, 100 adults and 10 puppies, and 60 mongrel cats, 53 adults and seven puppies. Of these, 10 adult dogs and puppies and 14 adult cats belonged to the control group. It was administered 1 mL of vaccine (or physiological solution for the control group) intramuscularly in the right hind limb. Between 14 days before and 21 days after vaccination the animals were evaluated for food consumption, behavioral changes and by clinical examination and blood tests. The statistical analysis was performed by Bioestat 5.0 program and the level of significance was set at $p \leq 0.05$ (95%). Regarding food consumption and behavioural changes there were no difference between groups. Concerning blood counts and biochemical examinations there were significant differences between animals

before and after vaccination. However, all values were within or close to the normal range and were attributed to fear/stress caused by handling of animals on the moment of sample collection. The same result was observed between the control and vaccinated dogs concerning to urea dosage. Regarding cats, this difference was observed between these groups in the following parameters: red blood cell, white blood cell, segmented, lymphocytes and platelets count, hemoglobin, hematocrit, creatinine and urea. These differences are justified by fear/stress caused by handling or are individual physiological characteristics of the animal. In relation to clinical parameters in dogs, no events were statistically significant. Concerning cats, there was significant difference between the control group and the vaccinated group since 14 animals of this group showed nasal discharge. All the observed alterations during this study were light and transitory, demonstrating no correlation with vaccine use and, therefore, are not classified as adverse events.

Acknowledgment: To TECPAR's Executive Directors, TECPAR's Quality Control Laboratory, TECPAR's Vaccine Production Laboratory and PhD. Fabio Barbour Scott.



SÉRIE HISTÓRICA DOS CASOS DE RAIVA ANIMAL NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Meneguete PS, Motta TG

Correspondente: Patrícia S Meneguete

E-mail: patricia.meneguete@saude.rj.gov.br

O Programa Estadual de Prevenção da Raiva no Estado do Rio de Janeiro iniciou as campanhas de vacinação animal no ano de 1983, determinando a diminuição significativa dos casos de raiva em cães e gatos e como consequência à redução de casos em humanos, já que o cão era o principal transmissor da raiva humana no Estado do Rio de Janeiro. Desde então, não tem sido detectado nenhum caso de raiva canina, devido às ações de controle representadas pela cobertura vacinal, atingindo índices maiores do que 90% da população estimada canina e felina entre 2000 e 2009. No ano de 2010, houve uma estimativa de vacinar aproximadamente 2.500.000 animais. Porém, após a ocorrência de eventos adversos nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, o Ministério da Saúde, baseado nos resultados encontrados nas avaliações laboratoriais de alguns lotes e dos estudos epidemiológicos efetuados, decidiu pela suspensão definitiva do seu uso na rede pública de Saúde, ficando o Estado sem cobertura vacinal desde então. Apesar dos esforços, o vírus da raiva continua presente no Estado causando a raiva em número significativo de bovinos e equinos, que são infectados por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*). O aparecimento de morcegos com o vírus em áreas urbanas, também vem sendo fator de grande preocupação, já que ações antropogênicas levaram a alterações no ecossistema, levando a urbanização desta espécie, que atraídos pelo aumento de abrigos e oferta de alimento, tem propiciado que, além dos herbívoros, os carnívoros venham sendo agredidos por morcegos. Considerando ser atualmente a campanha de vacinação contra a raiva em cães e gatos a principal medida preventiva no controle da raiva no Estado, faz-se necessário pensarmos em estratégias de vigilância mais apropriadas ao contexto epidemiológico e ambiental em nosso Estado, visando realizar ações educativas e definindo as áreas de maior risco.



THE EPIDEMIOLOGICAL IMPORTANCE OF BATS IN THE TRANSMISSION OF RABIES TO DOGS AND CATS IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL, BETWEEN 2005 AND 2014

Castilho JG¹, Souza DN¹, Oliveira RN¹, Carnieli PJr¹, Batista HBCR¹, Pereira PMC¹, Achkar SM¹, Macedo, CI¹

¹ Pasteur Institute, Av. Paulista 393, Zip Code 01311-000, São Paulo, SP, Brazil

Corresponding: Juliana G Castilho

E-mail: juliana.castilho@uol.com.br

In Brazil, rabies control in dogs and cats was pioneered by the state of São Paulo with the adoption of the Pan American Health Organization (PAHO) recommendations for prophylaxis and control, which led to a reduction in rabies cases from 1994 onward. As a result of these measures, the rabies virus (RABV) genetic lineage associated with dogs has not been found in the state since 1998, and all the cases in domestic animals reported since then have been caused by bat-associated lineages of RABV. In light of this, the present study sought to investigate rabies cases in dogs and cats in the state of São Paulo between 2005 and 2014 and identify the associated transmission cycles by characterizing the RABV lineages responsible for these cases. Nine samples from dogs (n=5) and from cats (n=4) were collected between 2005 and 2014. The tenth animal, a rabid cat, was analyzed by a different laboratory. The N gene nucleotide sequences obtained were analyzed with the neighbor-joining algorithm and Kimura 2-parameter model using the MEGA 6 program. Phylogenetic analysis revealed that the genetic lineages identified in all the samples were those circulating in Brazilian bats. The findings of this study demonstrate that bats play an important role in the transmission of rabies to domestic animals in São Paulo state, and that emphasis should be placed on the implementation of public policies to support surveillance of chiropterans for rabies.

Keywords: Rabies, Dogs, Cats, Bats, São Paulo, Epidemiology

Financial support: Instituto Pasteur.

VIGILÂNCIA ATIVA DE QUIRÓPTEROS HEMATÓFAGOS APÓS ESPOLIAÇÃO EM HUMANOS NO ESTADO DO AMAZONAS, NO PERÍODO DE 2002 A 2016

¹-Cardoso DP, ¹-Campos ACR, ¹-Reinehr NR, ¹-Fernandes VC, ¹-Barreto RAD, ¹-Martins SN

¹- Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas - FVS/AM

Correspondente: Deugles Pinheiro Cardoso

E-mail: deugles@gmail.com

A raiva é uma antroponose transmitida ao homem pela inoculação de vírus rábico presente na saliva de animais mamíferos infectados, principalmente através de mordeduras, arranhaduras e lambedura de pele lesionada ou mucosas. Esta enfermidade apresenta alta letalidade e alto custo na assistência preventiva às pessoas expostas ao risco de adoecer e morrer. O Estado do Amazonas possui 62 municípios, incluindo sua capital, distribuídos em uma área territorial de 1.559.161,682 km², com uma baixa densidade demográfica, de 2,23 habitantes por km². A introdução da pecuária de subsistência na região influenciou no acréscimo das populações do morcego hematófago *Desmodus rotundus*, com ampliação das fontes de alimentos. Na retirada destes animais para consumo ou comercialização, o homem passou a ser espoliado, gerando grave problema de saúde pública. O objetivo deste trabalho é descrever as ações de vigilância ativa de *Desmodus rotundus*, após notificação de espoliação de humanos em municípios do Estado do Amazonas, no período de 2002 a 2016. Durante este período, foram realizadas capturas ativas em 179 comunidades rurais, em 55% dos municípios. Dos animais capturados, foram enviadas amostras de encéfalo de 1.381 morcegos, sendo 270 hematófagos (232 *Desmodus*, 30 *Diaemus* e 08 *Diphylla*) e 1.111 morcegos não hematófagos, para exame laboratorial de diagnóstico para raiva, todos apresentando resultado negativo. Das comunidades trabalhadas, 90% eram de populações ribeirinhas e distantes das sedes dos municípios. As condições precárias de moradia em 100% das comunidades visitadas facilitaram o adentramento dos morcegos hematófagos. Constatou-se que 50% dos comunitários utilizavam mosquiteiros, tendo

sido observado, inclusive, como proteção em áreas de abrigo dos animais de criação. A gravidade da doença e o grande número de notificações de agressão a humanos por morcegos hematófagos, demonstra a importância na continuidade das ações de vigilância da raiva nestas espécies, bem como a implementação e continuidade do trabalho de educação em saúde e assistência, junto à população ribeirinha.



VÍRUS RÁBICO EM MORCEGO FRUGÍVORO (ARTIBEUS PLANIROSTRIS) EM ÁREA URBANA DO MUNICÍPIO DE JABOTICABAL/SP

Siconelli MJL¹, Dias MA², Carvalho AAB¹

¹ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP, Brasil

² Vigilância de Vetores e Zoonoses – Secretaria de Saúde de Jaboticabal/SP, Brasil

Correspondente Adolorata Carvalho

E-mail: adolorata89@hotmail.com

A raiva é uma antroponose transmitida pela inoculação do vírus presente na saliva e em secreções do animal infectado. Conhecida desde a antiguidade, ainda é um problema de saúde pública. Sua letalidade é de 100% e todos os mamíferos são susceptíveis. No Brasil, o marco da vigilância da raiva foi a implantação do Programa Nacional de Controle da Raiva (PNCR), convênio entre os Ministérios da Saúde e da Agricultura, e a Organização Mundial de Saúde. A partir disso, o PNCR passou a monitorar a circulação do vírus e a colocar em prática ações de prevenção e controle. Até as décadas de 80 e 90, o cão doméstico era o principal responsável pela manutenção da raiva urbana. Com o sucesso das campanhas de vacinação de cães e gatos, o cenário mudou; a partir do ano de 2004 os morcegos, hematófagos e principalmente os não hematófagos, ganharam maior importância na transmissão da raiva ao ser humano. Muitos municípios, especialmente no Estado de São Paulo, passaram a realizar vigilância passiva, orientando a população a comunicar a presença de morcegos caídos. O presente trabalho objetiva relatar o primeiro caso de isolamento do vírus rábico em quiróptero no Município de Jaboticabal, São Paulo. No dia 31/05/2016, um morcego foi encontrado morto sob uma árvore na APAE (Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais), localizada em bairro residencial, arborizado e que faz divisa com áreas de mata, próximo à zona rural. O animal foi recolhido pelo Serviço de Vigilância de Vetores e Zoonoses (VVZ) e, no dia 06/07/2016, encaminhado ao Laboratório de Diagnóstico da Raiva do Instituto Pasteur (LDRIP) de São Paulo. No dia

07/07/2016 foi divulgado o resultado do teste de imunofluorescência direta positivo para raiva, e a identificação do animal. Trata-se de morcego frugívoro, adulto, da Família Phyllostomidae, espécie *Artibeus planirostris*. Há muitos anos a VVZ de Jaboticabal encaminha morcegos ao LDRIP para verificação da circulação viral. No ano de 2015 foram 12 exemplares, a maioria de insetívoros; em 2016, até presente data, são dez, sendo oito insetívoros e dois frugívoros. Em 2015, o Escritório de Defesa Agropecuário de Jaboticabal notificou dois casos de raiva em bovinos, na área rural, divisa com o Município de Barrinha (a 20 km), e em 2016 um caso no Município de Monte Alto, a 25km. Jaboticabal está localizado a 58 km de Ribeirão Preto, onde se tem detectado frequentemente o vírus rábico em morcegos e, eventualmente, em cães (2014) e gatos (2015). Ressalta-se que em Jaboticabal nunca ocorreu caso de raiva humana e o último caso de raiva animal foi diagnosticado em 1982, em um cão. Diante do diagnóstico positivo em morcego na zona urbana, e dos recentes casos de raiva em herbívoros em municípios próximos, ações de Vigilância para prevenção dessa enfermidade devem ser intensificadas pela VVZ de Jaboticabal, em conjunto com o EDA, incluindo-se o plantão de atendimento ao município, ações educativas em saúde e aumento da cobertura vacinal em cães e gatos.



VÍRUS RÁBICO VERSUS MORCEGOS DE OCORRÊNCIA NA AMAZÔNIA LEGAL MARANHENSE

Mascarenhas MJO^{1,2}, Mendes SB^{1,2}, Cardoso FHS², Olimpio APM², Santana SS³, Fraga EC², Barros MC^{1,2}

¹ Curso de Mestrado em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, Av. Lourenço Vieira da Silva s/n, Cidade Universitária Paulo VI, Tirirical, 65050-150, São Luís, Maranhão, Brasil.

² Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Estado do Maranhão, Centro de Estudos Superiores de Caxias, Praça Duque de Caxias, S/N. Morro do Alecrim, Caxias, Maranhão, Brasil.

³ Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão – AGED/MA

Correspondente Marcia de Jesus Oliveira Mascarenhas

E-mail: marciaj_oliveira@hotmail.com

Os morcegos são considerados reservatórios naturais do vírus rábico, este causa a doença infectocontagiosa aguda denominada Raiva, caracterizada por um quadro de sintomas de patologia neurológica, que evolui ao óbito em poucos dias (DIMITROV et al., 2007). As espécies hematófagas *Desmodus rotundus* e *Diaemus youngi* por muito tempo tem sido vista como responsáveis por transmitir a raiva (ALLENDORF et al. 2012; SCHNEIDER et al., 2009). Entretanto Sodre et al.(2010) listaram 41 espécies de morcegos diagnosticados positivamente para a raiva no Brasil e Moutinho et al.(2015) também registrou uma espécie não hematófaga para o vírus rábico no estado do Rio de Janeiro. Um grande surto de raiva humana, transmitida por morcegos hematófagos no Brasil, ocorreu entre 2004 e 2005 nos estados do Pará e Maranhão (ROSA et al. 2006; WADA et al. 2011). Sendo que no estado do Maranhão foi relatada a ocorrência de 24 casos de raiva humana transmitida por morcegos hematófagos, com surtos nos municípios de Godofredo Viana, Cândido Mendes, Carutapera e Turiaçu (BARBOSA, 2007). Este trabalho tem como objetivo informar quanto a presença ou ausência de morcegos infectados com o vírus rábico de ocorrência na Amazônia legal maranhense, municípios de Godofredo Viana, Cândido Mendes, Carutapera e Turiaçu (Rota da Raiva em 2004 e 2005). Para tanto em cada município usou-se redes de neblina (Mist nets) de diferentes

tamanhos (12x3, 9x3 e 6x3) nos horários de 18:00 às 23:00 horas durante três noites consecutivas no período de Junho de 2016. Os espécimes coletados foram transportados em sacos de pano ao laboratório cedido pela AGED-MA, onde foram processados e retirados encéfalos para análise laboratorial. Os encéfalos foram armazenados em eppendorf de 1,5µl e transportados ao Laboratório de Virologia da UEMA, onde foram submetidos a Técnica de Imunofluorescência Direta (IFD) para diagnóstico da presença ou ausência do vírus rábico. Obteve-se espécies das famílias Phyllostomidae, Molossidae, Vespertilionidae e Emballonuridae com representantes de espécies frugívora, insetívoras, carnívoras e hematófagas (*Desmodus rotundus*, *Diaemus youngi*). A análise da Imunofluorescência direta revelou resultados negativo para todas as amostras analisadas evidenciando a não ocorrência do vírus rábico nestas espécies. Trabalho realizado por Povoas et al. (2014) obteve resultado positivo para as espécies de *D. rotundus* e *D. youngi*, com análise de 73 exemplares de quirópteros hematófagos e não hematófagos do estado do Maranhão. Apesar da negatividade do vírus rábico na rota do susto da raiva nos municípios maranhenses, o monitoramento destes reservatórios do vírus, se faz necessário uma vez que houve surtos nos anos de 2004 e 2005.

Agradecimentos: À FAPEMA pelo fomento da pesquisa, à Agência Estadual de defesa agropecuária do Maranhão– AGED/MA pelo apoio logístico de campo e ao Laboratório de Virologia da UEMA.





SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

MINISTÉRIO DA SAÚDE





**PARADIGMS IN ANIMAL RABIES
PREVENTION & CONTROL**

TRIBULATIONS OF THE LAST MILE

Vitor Del Rio

Panaftosa/-Organização Panamericana de Saúde/Organização Mundial da Saúde

E-mail: vdelrio@paho.org

In Latin American and Caribbean (LAC) countries, the number of cases of dog-mediated human rabies is at its lowest (11 cases in 2015) since the onset of the Regional Program for Rabies Elimination in 1983, a commitment from LAC countries to eliminate dog-mediated rabies coordinated by the Pan American Health Organization (PAHO). Despite minor setbacks, the decline in the number of human cases has been constant since 1983 and the region is no watt he tail of the rabies epidemic. While many LAC countries have significantly reduced rabies to a level where it is no longer of significant public health concern, elimination has proven elusive and pockets of the disease remain across the Region. In the 33-year period since 1983 the Region has set and committed to four dates for elimination (1990, 2000, 2012 and 2015). In this paper, we ponder on the multiple causes behind the elusive goal of rabies elimination, such as blanket regional goals oblivious to the large heterogeneity in national rabies capacities and to the multiple uncertainties and biases around the surveillance evidence. We also consider operational limitations due to suboptimal health systems, fixed attitudes and approaches, and contextual forces such as funding shifts that have played an often subtle but critical part in the failure to succeed. Looking ahead to the certain, albeit not yet with a defined date, elimination of dog mediated rabies in the Region, we also review the many challenges and questions that the Region faces at the last mile of the epidemic. Given the advanced position of the Americas in the race towards elimination, our considerations could provide valuable knowledge to other regions pursuing elimination goals.



DEMONSTRATION OF FEASIBILITY OF EFFECTIVE CANINE MASS VACCINATION PROGRAMMES

Lohr, F; Gibson, A; Shervell, K; Gamble, L

Mission Rabies, 4 Castle Street, Cranborne, Dorset, BH21 5PZ, United Kingdom

Corresponding: Frederich Lohr

E-mail: fred@missionrabies.com

In their “Rationale for investing in the global elimination of dog-mediated human rabies”, the World Health Organization described the freedom from dog-mediated human rabies as a “global public good”. Operating 7 projects in 5 rabies-endemic countries, Mission Rabies has successfully demonstrated that vaccination of 70% of the dog population, even in challenging environments, is possible. The benefits of rabies elimination are often clear to local stakeholders, however the methods required to eliminate it and how to practically implement them in the field are more often seen as a challenge. Mission Rabies has found that initial proof-of-concept intensive dog vaccination campaigns in a focused region is effective at growing stakeholder support, enabling subsequent expansion into surrounding areas. This has been demonstrated in both Goa, India and Blantyre City, Malawi, both of which began as vaccination of a single city and have expanded to the surrounding districts, vaccinating over 60,000 dogs annually at each location. Through partnership with the NGO, Worldwide Veterinary Service, capacity to provide basic veterinary care to sick and injured dogs encountered during the campaign has been incorporated into standard operating procedures, as well as including dog population management interventions as a valuable addition to the rabies elimination programme. Providing other human and animal health services and delivery of essential medications through the framework of rabies control is an example of how a “One Health” intervention could be planned to maximise available resources. All Mission Rabies projects are also accompanied by a comprehensive education programme, targeting primary school children in the region. Through

identifying children as rabies risk-reduction “champions” in their communities, Mission Rabies has reached a high level of acceptance in local communities which results not only in a better dissemination of the messages that help to protect people from contracting the disease, but also in high turnouts at stationary vaccination clinics in regions where the majority of dogs are owned. Through the development of a novel smartphone application, Mission Rabies have revolutionised the way field projects are managed and the impact of interventions is measured. Recording the vaccination of every dog in the field, the application collects valuable information about the spatial distribution of the dog population, facilitates direction of field teams and collects information about the health status of the resident dog population through customisable forms. This mobile application, together with the philosophy of creating a successful project through local partnerships and stakeholder engagement, as well as educating the communities at risk, have enabled Mission Rabies to vaccinate more than 380,000 dogs in their project areas since 2013, and see sharp declines in canine and human rabies cases.



ORIGAMI AND THE FINE ART OF TRACKING RABIES

Richard Franka, DVM, PhD, MPH

OIE Reference Laboratory for Rabies, Poxvirus and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology (DHCPP), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, United States

E-mail: rpf5@cdc.gov

Despite ample opportunities for viral detection from the time of Negri, rabies has remained an elusive foe from the standpoint of enhanced laboratory-based surveillance. Complex ideas and intricate, high tech multilayer solutions may, at times, provide resolutions to public health problems, but more often it is a simple, practical, penny-wise and user friendly application, allowing for widespread implementation, which produces sustainable health improving impacts. As repeatedly demonstrated over past centuries careful observation, open-minded, transdisciplinary approaches combined with simplicity are keys to lasting solutions to public health challenges. Examples include implementation of quarantine, Semmelweis' hand washing for prevention of puerperal fever, Lister's sterilization of surgical instruments, Snow's removal of the Broad Street pump handle to herd immunity via vaccination, antibiotic discovery and fine-mesh cloth filters for clean drinking water. Clearly, rabies disproportionately affects already neglected communities with low socioeconomic status in developing countries, with scarce resources, inadequate access to healthcare and less than ideal laboratory support. Today, simple but sensitive and specific economical diagnostics and targeted mass immunization is needed for the elimination of human rabies of canine origin. Emphasis on early detection and empowerment of local animal control teams and community healthcare workers to rapidly test diagnostic samples and make decisions in a decentralized fashion are critical for effective, sustainable rabies prevention programs and its ultimate elimination. From laboratories-on-paper medical diagnostics to origami-based paper foldscopes, innovative and often unorthodox ideas and approaches for current and future rabies diagnostics may be necessary to track rabies at a local, national and regional level.

RABIES AND ITS' TOOLBOX

Ad Vos

IDT Biologika GmbH, Dessau – Rosslau, GERMANY

E-mail: ad.vos@idt-biologika.de

Recently, regional progress in dog-mediated rabies have been achieved in several developing countries. These great accomplishments seem to underscore the claim that we know how to end rabies: rabies is 100% preventable with the available existing tools and proven approaches. Unfortunately, in other areas these same tools and approaches have not been able to break the cycle of transmission. How come it seems to work in one area and not in another: Are these failures a result of the fact that not all the tools are readily available or that the available tools are not properly used? But may be they are not suitable for local settings in certain countries? In the latter case can we adapt or optimize these tools and/or their 'instructions for use' like we did for intradermal administration of human vaccines? The most cost-effective approach to control dog-mediated rabies is by mass vaccination of dogs: Vaccinating more than 70% of the dog population can break the transmission cycle. But it seems that aiming for 70% dog vaccination coverage for an entire population may not be (initially) feasible everywhere. One of the major hurdles achieving such a high vaccination coverage is the large proportion of free-roaming dogs in some countries that are not accessible for parenteral vaccination, or only after intensified attempts to capture and vaccinate these animals. Is there not a more sustainable and (cost-) effective way to reach these dogs? It seems there is, considering that we have been able to vaccinate wildlife species against rabies and consequently have been able to eliminate certain types of wildlife-mediated rabies from large areas of North-America and Europe. Simply by adapting the available tool 'parenteral vaccine in a syringe' to an 'oral vaccine in a bait'. Oral vaccination of wildlife can be adapted for free-roaming dogs as has been shown in several field studies. If properly used,

as with any tool, it can increase overall vaccination coverage, especially of the free-roaming dogs. In areas where the existing tools and approaches have failed or not yet reached the goals set, oral vaccination should be considered as an additional approach and become part of rabies' tool box. Of course, as with all other tools in the box, not only for vaccination but also for diagnostics, there will always be room for improvement like for example enhanced thermo-stable dog vaccines. But because rabies kills someone every 9 minutes we can't wait and we should start to End Rabies Now with all the tools available.



USE OF SEROLOGY TO MANAGE ANIMAL EXPOSURES TO RABIES: WHAT DON'T WE KNOW?

Susan Moore

Rabies Laboratory/KSVDL/College of Veterinary Medicine/Kansas State University,
Manhattan, KS 66502

E-mail: smoore@vet.k-state.edu

Recent changes to the “Compendium for Animal Rabies Control and Prevention” published in March 2016, allows for dogs and cats that have been previously vaccinated but the vaccinations are not current (vaccine was not administered at annual or three-year expiration date) be treated the same as dogs and cats that are current on vaccinations. Documentation of vaccines must be provided. In brief, a booster vaccination is administered with in home monitoring for 45 days. For dogs and cats that cannot provide documentation of vaccine history, prospective serologic monitoring (PSM) is an option to monitor the rabies antibody response, via serology, to a booster vaccination for proof of vaccinated status; allowing those pets to be treated as currently vaccinated. This decision is based on findings that upon boosting, out of date dogs and cats respond as well as currently vaccinated pets. This changes gives pets and pet owners more options; relieving the hard decision whether to pay for strict quarantine or to euthanize. The reasoning behind using PSM to assess the vaccination status assumes: 1) an unvaccinated pet does not respond to a level above 0.5 IU/mL by day 5-7 after vaccination, 2) the anamnestic response is detected by a 2-fold rise in measurement between the day 0 sample and the day 5-7 sample, and 3) serology can reliably distinguish between an initial response and an anamnestic response. A review of published studies concerning dog and cats rabies vaccination demonstrated a range of 0% to 100% of animals reaching 0.5 IU/mL at day 7 suggesting the possibility for a naïve animal to produce a robust response by day 5-7. The ability of serology testing to detect an anamnestic response by testing in parallel samples drawn at day 0 and

day 5-7 is related to both the variability of individual animals responding at the same rate of antibody rise to booster vaccinations and the variability of serologic assays. It is generally accepted that the variability of antibody titer measurement is two-fold for repeat measurement of the same sample, therefore the expectation of a two-fold rise proving an anamnestic response is tenuous. The risk of contracting rabies from an exposure is related to characteristics of the host and characteristics of the virus exposure. The compendium guidelines are based on tenet that current vaccination OR evidence of rabies immunity protects an exposed animal from rabies. The ability of serologic testing to define immune status is associated to the definition of protection, the assay used, variability of the performance of the assay, as well as the biologic variation between individuals in their rate of antibody level rise in response to initial as well as booster vaccination. Knowing about these variables is essential for policy decisions.



JUST VACCINATE ALL THE DOGS.... IT AIN'T THAT EASY

Ryan M Wallace and Jesse D Blanton

E-mail: Asi5@cdc.gov; euk5@cdc.gov

Every year, particularly around world rabies day, several inspirational articles are published claiming that global canine rabies elimination is within our reach. They claim that we have all of the tools needed to eliminate this disease. They claim we just need to “vaccinate all of the dogs”. The question posed in this session is, “if it is so easy, why has it not yet been accomplished?” A vaccine to prevent rabies has existed since 1885, and has been widely used in developed countries since the early 20th century. Canine rabies elimination programs were built on the back of this vaccine and were wildly successful at eliminating the disease under the premise of a developed nation's infrastructure. Yet, there are still at least 90 countries that have not eliminated the canine rabies virus variant (46% of all countries). Canine rabies is the world's top zoonotic disease killer. So if it is so easy to vaccinate all of the dogs, why has it not been done? Canine rabies elimination through mass vaccination requires, at a minimum, knowledge of the dog population (ecology), knowledge of the human-dog relationship, knowledge of vaccine acceptability, cold-chain infrastructure, veterinary infrastructure, and capacity to conduct post-vaccination evaluation. This presentation will examine recent published and unpublished data from programs where extensive efforts have been extended to evaluate canine vaccination programs in developing countries. This presentation will pose the questions, “when viewed from the eyes of a developing nation, is canine rabies elimination truly feasible with current technologies?” and “do we believe that tools created for use in developed countries can have the same success in less developed nations?”

http://www.who.int/rabies/Presence_dog_transmitted_human_Rabies_2014.png?ua=1





**PARADIGMS IN HUMAN RABIES
PREVENTION & CONTROL**

HUMAN RABIES PRE-EXPOSURE VACCINATION: RADICAL RABIES RISK REDUCTION FOR WHO NEED IT MOST

Sergio E. Recuenco

PANAFTOSA-Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud

E-mail: sergio.recuenco@gmail.com

Rabies pre-exposure vaccination (Pre-EP) for human populations living in high risk areas for exposures had been recommended since 2004 by the World Health Organization. In 2010, Peru became the first country to implement a policy to administer rabies Pre-EP massively for the high-rabies-risk areas in the Peruvian Amazon Basin, where vampire bat rabies is endemic, and bat bites are highly common. The Peruvian Pre-EP Program effectively stopped human rabies cases in the intervened zones. Since then, other countries in South America also implemented similar programs and pilot studies targeting areas with high risk for vampire bats rabies. Also, in Asia, The Philippines implemented a Pre-EP school program targeting specific canine rabies risk areas. The Peruvian Pre-EP campaign progressively included several regions in the country and provide important evidence for future programs in other countries. The observed results in Peru Pre-EP campaign allows to state that: 1) Massive Pre-EP with modern human rabies vaccines is safe, 2) Human rabies risk is drastically reduced to almost none for vaccinated individuals, despite the high likelihood of exposure is unchanged, 3) Remote indigenous populations in the Amazon Basin can be reached to receive the 3-dose Pre-EP schedule, with an acceptable investment. Those three key points support the advocacy for the urgent implementation of the use of Pre-EP in countries with high rabies risk with population living in regions with limited access to human rabies vaccines and basic health services, and achieve the elimination of the existing disparities for human rabies prevention across the globe.



BRAZIL: RABIES PROPHYLAXIS

Ricardo Siqueira Cunha

Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo-SP

E-mail: siqueira89@hotmail.com

Brazil is a continental dimension country with continental, with 206 million people that, through SUS (public health system), makes available for the population free anti-rabies treatment both for the pre-exposure (PreP) and the pos-exposure (PEP). Many logistic and technical challenges are involved in this procedures: supply to all regions, keeping cold chain in remote locations, having health staff capable fusing correct rabies prophylaxis techniques, stablish procedures to protect Amazon region in habitants who are constantly bitten by hematophagus bats, and maintaining a suitable laboratory network for performing rabies diagnostic and serology, and improving the investigatiton and surviellance in rabies wild species and finding out how the rabies virus behaves. Approximately 600.000 persons are attending in Brazil rabies clinics per year. The vaccine used in Brazil is the PVRV (Verorab) obtained by the Health Ministry (HM) from Butantan Institut, public national laboratory. The schemes were used: PreP: 0, 7, 28 days: Imor Id route with serology after 10 or 14th day; PEP: 0, 3, 7, 14, 28 days, as a consequence of the reduction of the national vaccine stock, the HM is guiding the use of alternatives schedules to rationalize the use of the vaccine: 1) PreP: use of the ID route 2) PEP: a) reinforce the need of investigation of the cases, b) adopting schedules supported by the World Health Organization (WHO): IM route, 4 doses (0, 3, 7, 14); or ID route (0, 1 ml): day 0: 2 doses, day 3: 2 doses; day 7: 2 doses; day 28: 2 doses. As the challenges above demonstrates, the Brazilian public health system has herculous task but as our nation an then claims "people Brazil don't run from a fight".



INNOVATIVE ANTIVIRAL STRATEGIES TARGETING DIFFERENT STEPS OF RABV INFECTION

S. KALI¹, C. JALLET¹, M. BEN-MECHLIA¹, V. PONS², Y. WU², J.-C. CINTRAT², J. BARBIER², D. GILLET², K. MANSFIELD³, T. FOOKS³, T. MULLER⁴, C. RUPPRECHT⁵, A. OSTERHAUS⁶, P. KORAKA⁷ & N. TORDO^{1,8}.

¹. Unit Antiviral Strategies, Institut Pasteur, France;

². IBITEC-S, CEA, Gif sur Yvette, France – LabExLermit;

³. APHA, Weybridge, UK;

⁴. Friedrich-Loeffler-Institute, Greifswald - Insel Riems, Germany;

⁵. LYSA LLC Atlanta, USA ;

⁶. University of Veterinary Medicine, Hannover, Germany ;

⁷. Erasmus MC - Department of Viroscience, Rotterdam, Netherland ;

⁸. Institut Pasteur de Guinée, Université Gamal Abdel Nasser, Conakry, Guinée

Corresponding: Noël Tordo

E-mail: ntordo@pasteur.fr

Human rabies still accounts for 70.000 deaths per year, mostly in developing countries, even though effective vaccines are available. Rabies victims die because, due to local unavailability or excessive cost, they cannot: (1) access to preventive vaccines; (2) access to full WHO-recommended “post-exposure” treatment combining vaccine and rabies immunoglobulin (RIG) instilled locally to “neutralize” the viral inoculum before it reaches the neurons and the central nervous system (CNS). However, since 2005, the “Milwaukee protocol” that helped a girl to survive symptomatic rabies has increased the interest of scientists to develop innovative therapeutics against rabies disease. The long incubation period (two months in average) necessary for RABV to infect the CNS provides opportunities to develop strategies blocking the virus at different steps of the infection: entry, fusion, retrograde transport, replication, exit. Different strategies are currently explored to find active anti-rabies molecules: (1) classical screening of compounds libraries; (2) design of molecules specifically destabilizing functional interactions between viral proteins; (3) targeting cellular functions indispensable for viral cycle. The presentation will describe examples of this quest for a future anti-rabies therapy. Several non cytotoxic candidates have been found >95% efficient in vitro, alone or

in combination, and some are currently tested in vivo on mouse model. The concerted efforts of several labs gathered in the European program Aklepios (<http://asklepiosfp7.eu/>) will be in particular presented.



TREATMENT OF HUMAN RABIES: INTO DOUBLE DIGITS OF SURVIVORS

Rodney Willoughby

Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI, USA

E-mail: rewillou@mcw.edu

Human rabies survivors are increasingly reported. There are 11 known survivors using the Milwaukee protocol and at least 6 survivors using other approaches. Functional outcomes show an unusual bimodal distribution. New diagnostics and antivirals are on the near horizon. There is sufficient equipoise between conventional critical care and experimental treatments including novel antivirals to justify randomized clinical trials. A central, multinational Institutional Review Board and international biological and sequence repositories are needed to expedite progress.





Apoio / Support



Patrocinadores / Sponsors



Biogénesis Bagó

SANOPI PASTEUR

A DIVISÃO DE VACINAS DA SANOFI



SECRETARIA DE
VIGILÂNCIA EM SAÚDE

MINISTÉRIO DA
SAÚDE

