



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS
CURSO DE MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS

RHOMERO SALVYO ASSEF SOUZA

**PERSISTÊNCIA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O VÍRUS
RÁBICO APÓS QUATRO ANOS DE VACINAÇÃO EM REGIMES DE PRÉ E PÓS-
EXPOSIÇÃO E DOSES DE REFORÇO, EM POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL
EXPOSTA A AGRESSÃO POR MORCEGOS HEMATÓFAGOS NO BRASIL.**

BELÉM-PARÁ

2012

RHOMERO SALVYO ASSEF SOUZA

**PERSISTÊNCIA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O VÍRUS
RÁBICO APÓS QUATRO ANOS DE VACINAÇÃO EM REGIMES DE PRÉ E PÓS-
EXPOSIÇÃO E DOSES DE REFORÇO, EM POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL
EXPOSTA A AGRESSÃO POR MORCEGOS HEMATÓFAGOS NO BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós- graduação em Doenças Tropicais do
Núcleo de Medicina Tropical da
Universidade Federal do Pará.

Orientador: Prof. Dra. Rita Catarina
Medeiros Sousa.

BELÉM-PARÁ

2012

**Dados Internacionais de Catalogação -na- Publicação (CIP) – Biblioteca
do Núcleo de Medicina Tropical/UFPA, Belém-PA**

Souza, Rhomero Salvyo Assef.

Persistência de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico após quatro anos de vacinação em regime de pré e pós- exposição e doses de reforço, em população de área rural exposta a agressão por morcegos hematófagos no Brasil / Rhomero Salvyo Assef Souza; orientadora, Rita Catarina Medeiros Sousa. – 2012

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais. Belém, 2012.

1. Vírus da raiva. 2. Raiva. 3. Anticorpos neutralizantes I. Sousa, Rita Catarina Medeiros, orient. II. Título.

CDD: 22. ed. 616.953

RHOMERO SALVYO ASSEF SOUZA

PERSISTÊNCIA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O VÍRUS RÁBICO APÓS QUATRO ANOS DE VACINAÇÃO EM REGIMES DE PRÉ E PÓS-EXPOSIÇÃO E DOSES DE REFORÇO, EM POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL EXPOSTA A AGRESSÃO POR MORCEGOS HEMATÓFAGOS NO BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará. Comissão formada pelos professores:

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Rita Catarina Medeiros Sousa, Universidade Federal do Pará- UFPA –
Orientadora.

Profa. Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro, Universidade Federal do Pará- UFPA -
Avaliadora.

Dra. Elizabeth Salbé Travassos da Rosa, Instituto Evandro Chagas- IEC- Avaliadora.

Dra. Irna Carla do Rosário Souza Carneiro, Universidade do Estado do Pará- UEPA -
Avaliadora.

Profa. Dra. Maisa Silva de Sousa, Universidade Federal do Pará- UFPA - Suplente.

Aprovado em: ___/ ___/ ___

Conceito: _____

i

DEDICATÓRIA

À minha Avó Maria,
exemplo de amor à vida e de dedicação à família.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela conquista. Nele, tudo posso! E à Nossa Senhora de Nazaré, poderosa intercessora.

À minha família pelo apoio. Pai, Mãe, irmãos e querida avó: amo vocês!

À minha orientadora, Dra. Rita Medeiros, pela parceria e amizade.

Ao “Grupo do Morcego” – Dra. Rita, Dra. Liliam, Reynaldo, Luzia, Mila, Alvino, Regis, Caio, Zé e Isabela. Esse trabalho é nosso!

Aos Amigos do Mestrado – Juliana, Milene, Albério (e Sanny), e Wardie. Obrigado pelos momentos de alegria memoráveis!

Um agradecimento mais que especial à Milene, pela incansável “orientação” e por acreditar que tudo daria certo, sempre.

Aos companheiros do Hospital Ophir Loyola, Hospital Universitário João de Barros Barreto e Hospital Porto Dias, pelo estímulo.

Ao Julius, que, com sua simplicidade, me fez entender de fato o trabalho.

À Nira, da Biblioteca no NMT, pelas pesquisas realizadas.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para esta vitória!

EPÍGRAFE

Só existem dois dias no ano em que nada pode ser feito.
Um se chama ontem e o outro se chama amanhã,
portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar,
fazer e principalmente viver.
(Dalai Lama)

RESUMO

A raiva é uma zoonose cosmopolita caracterizada como uma encefalite viral aguda, progressiva que mata cerca de 55.000 pessoas anualmente no mundo. O *Vírus da Raiva* é transmitido por animais domésticos, rurais e silvestres, e atualmente, na Amazônia brasileira tem se observado com frequência surtos de raiva humana transmitida por morcegos. A forma de tratamento mais bem sucedida após possível exposição ao *Vírus da Raiva* é a imunoprofilaxia. O presente estudo apresenta-se como uma coorte prospectiva da manutenção de anticorpos neutralizantes antivírus rábico em 508 indivíduos previamente vacinados em uma população do Município de Augusto Corrêa- Pará- Brasil, no período de 2007 a 2009. Para tal, foram colhidas amostras de soro para dosagem de anticorpos neutralizantes pela técnica RFFIT. Na amostra estudada o gênero predominantemente foi o masculino; a mediana da idade foi 16 anos com desvio interquartilico entre 8 e 30 anos, e houve maior concentração nas faixas etárias de 2 a 9 anos e 10 a 19 anos e a maioria dos indivíduos realizaram esquema vacinal de exposição completo. A produção de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, em níveis protetores ($> 0,05$ UI/mL) ocorreu em 87,3% dos indivíduos no primeiro ano do estudo e a manutenção dos títulos de soroproteção foi de 85,6% no segundo ano e de 93,2% no ano seguinte. O estudo demonstrou melhor perfil imune no gênero feminino em relação ao gênero masculino; nas faixas etárias de 30 a 39 anos e 50 a 59 anos; e no grupo de 32 indivíduos que receberam dose de reforço, conforme indicação pelos títulos de anticorpos. Nesse estudo a população investigada demonstrou bons níveis de anticorpos neutralizantes ($> 0,5$ UI/mL) contra o *Vírus da Raiva* após os 4 anos de vacinação.

Palavras chave: raiva, *Vírus da Raiva*, anticorpos neutralizantes

ABSTRACT

Rabies is a cosmopolitan zoonosis characterized as an acute viral encephalitis, progressive killing around 55.000 people annually worldwide each year. The rabies virus is transmitted by domestic animals and rural and wild, and now, in the Brazilian Amazon has been observed often outbreaks of human rabies transmitted by bats. The shape of most successful treatment after possible exposure to rabies virus is immunoprophylaxis. This study presents itself as a prospective cohort of maintaining rabies virus neutralizing antibodies in 508 previously vaccinated individuals in a population of the municipality of Augusto Corrêa- Pará- Brazil, from 2007 to 2009. To this end, serum samples were collected for measurement of antibodies by the technique RFFIT. The study sample the genre was predominantly male, with the median age about 16 years with interquartile range between 8 and 30 years, and there was a greater concentration in the age groups 2-9 years and 10 to 19 years; and most of subjects performed the immunization schedule full exposure. The production of neutralizing antibodies against rabies virus in protective levels (> 0.05 IU/mL) occurred in 87.3% of subjects in the first year of the study and preservation of seroprotection was 85.6% in the second year and 93.2% the following year. The study showed better immune profile in females compared to males; in the age groups 30-39 years and 50-59 years; and the group of 32 subjects who received a booster dose, as indicated by antibody titers. In this study, population investigated showed good levels of neutralizing antibodies (> 0.5 IU/mL) against the rabies virus after 4 years of vaccination.

Keywords: rabies, rabies virus, neutralizing antibodies

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 JUSTIFICATIVA	20
3 REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 HISTÓRICO.....	21
3.2 ETIOLOGIA.....	22
3.3 ETIOPATOGENIA.....	26
3.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	28
3.5 EPIDEMIOLOGIA.....	30
3.6 DIAGNÓSTICO.....	34
3.7 TRATAMENTO E PROFILAXIA	36
3.8 IMUNOLOGIA DA VACINAÇÃO ANTIRRÁBICA	41
4 OBJETIVOS	42
4.1 OBJETIVO GERAL.....	42
4.1.2 Objetivos específicos	42
5 MATERIAIS E MÉTODOS	43
5.1 LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	43
5.2 PROCESSO DE RECRUTAMENTO DA POPULAÇÃO.....	44
5.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	44
5.4 PROCEDIMENTOS E DESENHO DO ESTUDO.....	44
5.5 COLETA E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES BIOLÓGICAS.....	45
5.6 TESTE RÁPIDO DE INIBIÇÃO DE FOCOS FLUORESCENTE (RFFIT).....	46
5.7 MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	47
6 RESULTADOS	48
6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS E HISTÓRIA DE IMUNIZAÇÃO ANTIRRÁBICA.....	48

6.2 PERFIL IMUNOLÓGICO NAS TRÊS AVALIAÇÕES.....	49
6.3 PERFIL IMUNOLÓGICO SEGUNDO O GÊNERO.....	51
6.4 PERFIL IMUNOLÓGICO SEGUNDO A FAIXAS ETÁRIAS.....	55
6.6 PERFIL IMUNILÓGICO SEGUNDO PRÉ-EXPOSIÇÃO OU PÓS-EXPOSIÇÃO.....	61
6.7 PERFIL IMUNILÓGICO SEGUNDO DOSES DE REFORÇO.....	62
7 DISCUSSÃO.....	64
8 CONCLUSÃO.....	68
9 REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICE.....	77
ANEXO.....	89

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1: Estados e municípios brasileiros onde ocorreram os surtos de raiva humana, 2004 e 2005.....	18
Figura 2: Série histórica de surtos de raiva transmitida por morcegos na América Latina, 1975 – 2009; Em destaque (vermelho) a comparação entre o número de casos ocorridos no Brasil e no Peru, 1974-2006, e (azul) os surtos ocorridos no Peru, 2006- 2009.....	22
Figura 3: Classificação filogenética do gênero <i>Lyssavirus</i>	23
Figura 4: Representação esquemática da estrutura do <i>Vírus da Raiva</i>	25
Figura 5: Patogênese do <i>Vírus da Raiva</i>	27
Figura 6: Evolução clínica da raiva.....	29
Figura 7: Ciclo epidemiológico da raiva.....	31
Figura 8: Distribuição da raiva humana por espécie agressora, Brasil; 1986 a maio de 2009.....	33
Figura 9: Desenho do estudo.....	45
Figura 10: Proporção de título de anticorpos protetores em população exposta ao vírus rábico Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	50
Figura 11: Proporção de título de anticorpos protetores em amostra pareada de população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	51
Figura 12: Proporção de título de anticorpos protetores, segundo gênero, de população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	53
Figura 13: Proporção de título de anticorpos protetores, segundo gênero, em amostra pareada de população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	55
Figura 14: Mediana, primeiro quartil e terceiro quartil de anticorpos protetores, segundo realização de booster, em amostra pareada de população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	63
Figura 15: Proporção de anticorpos protetores, segundo realização de Booster, em amostra pareada de população exposta ao vírus rábico no município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	63

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	página
Quadro 1: Espécies da família <i>Rhabdoviridae</i> que infectam mamíferos.....	24
Tabela 1: Análise demográfica e realização de vacinação em população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	48
Tabela 2: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico em população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	49
Tabela 3: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo o gênero, em população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	52
Tabela 4: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo gênero, em amostra pareada de população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	54
Tabela 5: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo faixas etárias, em população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	56
Tabela 6: Variação da mediana de títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo faixas etárias, em população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	57
Tabela 7: Variação da mediana de títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo faixas etárias, de amostra pareada em população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	59
Tabela 8: Proporção de título de anticorpos protetores, segundo faixa etária, de população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	60
Tabela 9: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo o tipo de imunização antirrábica, em população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	61
Tabela 10: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo realização de booster, em amostra pareada de população exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

A Ano

ABL= *Vírus lissavirus de morcego Australiano*;

ABL1= *Vírus lissavirus de morcego Europa 1*

BHK-21 C13 Células susceptíveis ao vírus:

CDs Células Dendríticas

CD4⁺ Linfócitos T auxiliar

CD8⁺ Linfócitos T citotóxicos

CD11c⁺

CD86⁺

CO₂. Dióxido de Carbono

CONEP Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

D Dias

D. Padrão Desvio-padrão

DUVENHAGE *Vírus Duvenhage*

EBL2 *Vírus lissavirus de morcego Europeu 2*

ELISA Ensaio Imunoenzimático Indireto

EUA Estados Unidos da América

Exp Pós-exposição

F Fosfoproteína

FAVN. *Fluorescent Antibody Virus Neutralization*

G Glicoproteína

GBS Guillain Barré

GIE Gabinete Internacional de Epizootias

GT Genótipo

HDCV Vacina de Células Humanas Diploides

ICTV Comitê Internacional de Taxonomia Viral

IFD Imunofluorescência Direta

Ig Imunoglobulina

IgG Imunoglobulina G

IgM Imunoglobulina M

IP Instituto Pasteur

IC Intervalo de Confiança

L Polimerase
LAGOS BAT *Vírus Lagos Bat*
LCR Líquido Cefalorraquidiano
LabZoo/ CCZ Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores do Centro de Controle de Zoonoses
M Proteína da Matriz
M Meses
MA Maranhão
MOKOLA *Vírus Mokola*
N Nucleoproteína
NB2 Laboratório de Biossegurança Nível 2
NB3 Laboratório de Biossegurança Nível 3
OMS Organização Mundial da Saúde
OPAS Organização Pan-Americana da Saúde
P75 Receptor Neurotrópico de Baixa Afinidade
PA Pará
PCECV Vacina Purificada de Células de Embrião de Galinha
pH Potencial Hidrogeniônico
P.M. PITTMAN - MOORE
Pré Pré-exposição;
PVRV *Purified vero cell rabies vaccine*, Verorab®, Sanofi Pasteur
P.V. amostras de vírus (cepa Pasteur)
RAPINA *RAPId Neutralizing Antibody*
RFFIT Inibição Rápida de Focos Fluorescentes
RNP Complexo Ribonucleocapsídio
RNA
RT-PCR Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase precedida de Transcrição Reversa
SBF Soro Bovino Fetal Estéril
SNC Sistema Nervoso Central
SNP Sistema Nervoso Periférico
SHIBV Shimoni bat virus
SVS/MS Secretaria de Vigilância em Saúde/ Ministério da Saúde do Brasil
UFPA Universidade Federal do Pará-
UI/mL

V1 Visita 1

V2 Visita 2

V3 Visita3

VABL *Vírus Australian bat lyssavirus*

VEBL-1 *Vírus European bat lyssavirus 1*

VEBL-2 *Vírus European bat lyssavirus 2*

VERO Células de rim de macaco verde africano *Cercopithecus aethiops*

VERORAB Vacina de Cultivada em Linhagens Contínuas de Células VERO

VDUV *Vírus Duvenhage*

VLB *Vírus Lagos Bat*

VMOK *Vírus Mokola*

VRab *Vírus da Raiva*

1 INTRODUÇÃO

A raiva é uma das mais antigas doenças infecciosas que se tem conhecimento. (RUPPRECHT et al., 2002). É causada pelo *Vírus da Raiva* (VRab) que é membro da família *Rhabdoviridae* e do gênero *Lyssavirus* (ICTV, 2005). É considerada uma doença cosmopolita; por outro lado, os dados sobre morbidade e mortalidade constituem a única informação, uma vez que a doença apresenta quase 100% de letalidade nas diferentes espécies animais (BRASIL, 2005a, REZENDE et al., 1997).

A transmissão da raiva se dá principalmente através da mordida de um animal que está excretando VRab na saliva (COSTA, 2000). Todos os mamíferos possuem células competentes para a replicação do VRab, sendo esses os únicos susceptíveis ao vírus e os únicos capazes de transmiti-lo. Entre os exemplos de principais mamíferos transmissores estão: o cão (*Canis familiaris*), o gato (*Felis catus domesticus*), morcegos de diferentes espécies (ordem *Chiroptera*), a raposa (*Vulpes vulpes*), o coiote (*Canis latrans*), o chacal (*Canis mesomelas*), o gato do mato (*Leopardus spp*), a jaritataca (*Conepatus chilensis amazonicus*), o guaxinim (*Procyon sp.*) e os macacos (ordem *Primates*) (COSTA, 2000).

Após a agressão por um animal infectado, o VRab pode alcançar, diretamente, as terminações nervosas sensoriais e/ou motoras, ou permanecer por algumas horas nas células musculares estriadas do tecido atingido, onde haverá um processo de amplificação viral, que propiciará a infecção dos nervos periféricos. O genoma do VRab é transportado no interior do axoplasma dos neurônios, centripetamente, até alcançar o Sistema Nervoso Central (SNC). Uma vez alcançado o SNC, o VRab atinge diferentes porções do cérebro e dissemina-se, centrifugamente, para todos os tecidos do hospedeiro (WARRELL E WARRELL, 2004; JAKSON, 2008).

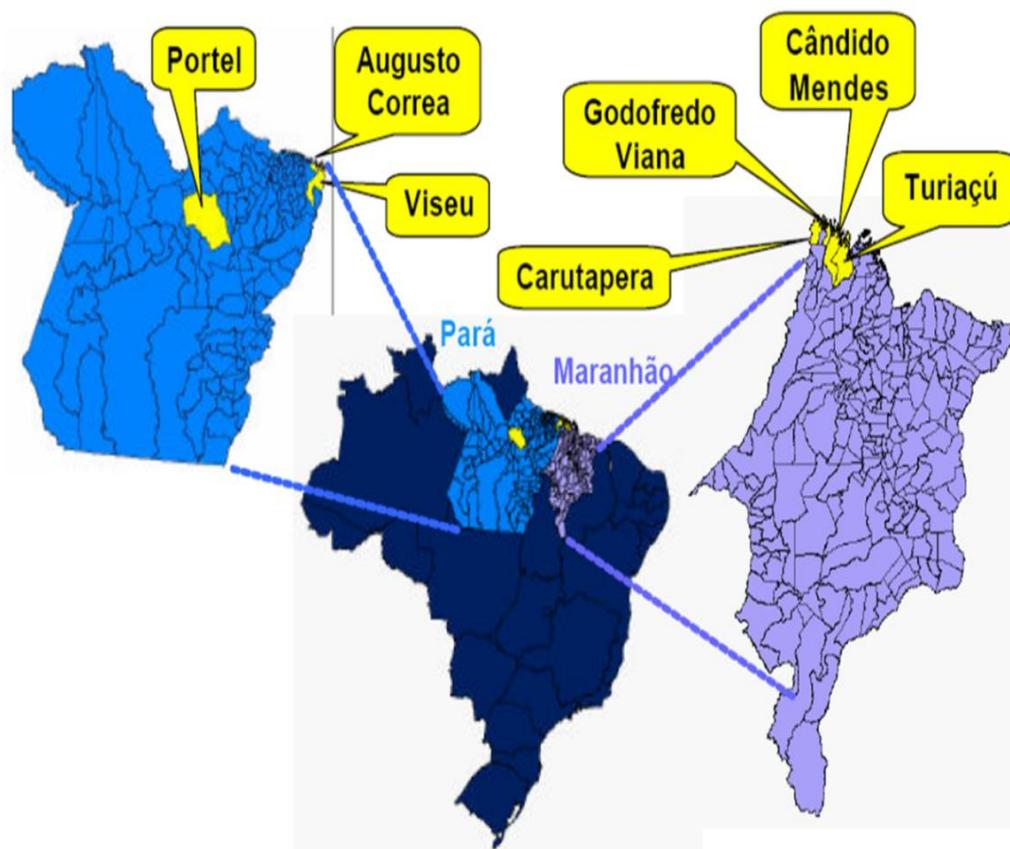
A sintomatologia da raiva varia conforme a espécie infectada. A doença se inicia após o período de incubação com alterações de comportamento, sensação de angústia, cefaléia, pequena elevação de temperatura, mal-estar, alterações sensoriais e dor no local da mordedura. Na fase seguinte, de excitação, surge hiperestesia de uma extrema sensibilidade à luz e ao som, dilatação das pupilas e aumento da salivação. Conforme a doença progride, surgem espasmos nos músculos da deglutição e líquidos são recusados por contrações musculares (hidrofobia) (CUNHA, 2007).

A doença mata cerca de 50.000 a 55.000 pessoas anualmente, com 25.000 a 30.000 mortes somente na Índia, e mais de 3 bilhões de pessoas continuam sob risco de infecção em mais de 100 países. Por décadas, humanos, de maneira geral, têm sido agredidos por morcegos hematófagos e estão em constante risco de aquisição da doença, sobretudo na

América Latina (WUNNER, 2010). No Brasil, no período de 2004 a junho de 2012 foram notificados 97 casos de raiva humana. Esses casos ocorreram como segue: 30 casos em 2004, 44 casos em 2005, 9 casos em 2006, 1 caso em 2007, 3 casos em 2008, 2 casos em 2009, 3 casos em 2010, 2 casos de 2011 e 3 casos até junho de 2012 (BRASIL, 2012).

No Estado do Pará (PA), a somatória do número de casos no período de 2004 a junho de 2012 totalizou 39 casos de raiva humana e esses ocorreram nos anos de 2004 e 2005. Em 2004 e 2005, foram registrados 22 e 17 casos da doença, respectivamente (BRASIL, 2012). Em 2004, o surto de raiva humana ocorrido nos Municípios de Portel e Viseu (PA) registrou 22 casos da doença e em 2005, o surto de raiva humana no município de Augusto Corrêa (PA) registrou 17 casos da doença (BRASIL, 2004a; 2005a). Também foram notificados casos de raiva humana nos anos de 2004 e 2005 nos Municípios de Turiaçu, Godofredo Viana, Carutapera e Cândido Mendes, localizados no Estado do Maranhão (MA), conforme observado na figura 1.

Figura 1: Estados e municípios brasileiros onde ocorreram os surtos de raiva humana, 2004 e 2005.



Fonte: Brasil, 2004a; Brasil, 2005a.

Tais surtos ocorridos nos estados do Pará e do Maranhão foram favorecidos pelas precárias condições de moradia da população que vive dentro ou próximo a floresta, bem como pelo desmatamento que fomenta o deslocamento dos morcegos do seu habitat natural para o habitat humano (SODRÉ et al., 2010). Embora se tenha ciência da ocorrência de surtos de raiva humana transmitida por morcegos a populações rurais no norte do Brasil, poucos estudos epidemiológicos têm sido realizados. Planos de ações em saúde nessa região são de extrema importância, pois permitiriam o entendimento do ciclo de transmissão da doença e seus fatores de influência, bem como diminuiriam a transmissão do vírus e o número de acometidos pela raiva (BRASIL, 2004a; BRASIL, 2005a; TRAVASSOS DA ROSA et al., 2006).

A medida mais importante de prevenção da raiva é oferecer a vacinação aos indivíduos sob risco da doença em regimes de pré e pós-exposição com a administração de três e cinco doses respectivamente (BRASIL, 2009a). Apesar da vacina antirrábica de cultivo celular (a mais utilizada mundialmente) ser altamente eficaz e segura, sua proteção não é duradoura, sendo recomendadas doses de reforço em diversas situações de reexposição.

Alguns estudos têm demonstrado que, em determinadas populações, apenas uma dose de reforço da vacina antirrábica seria suficiente para garantir a proteção desejada (BRIGGS et al., 2001). Além disso, estudos sorológicos têm mostrado títulos de anticorpos neutralizantes superior a 0,5 UI/mL, considerados protetores, podendo permanecer nesse nível vários anos após vacinação completa (STRADY et al., 1998). O tratamento pós-exposição tem sido realizado desde o final do século XIX, e, atualmente, tanto a vacinação quanto a imunoglobulina são seguras e eficazes (WHO, 2010).

2 JUSTIFICATIVA

A ocorrência de vários casos de raiva humana transmitidos por morcegos em populações rurais representa um sério problema de saúde pública no Brasil. A necessidade de um olhar mais apurado para esse problema foi enfatizado pelos surtos registrados nos municípios de Portel, Viseu e Augusto Corrêa (PA) e nos municípios de Turiaçu, Godofredo Viana, Carutapera e Cândido Mendes (MA), nos anos de 2004 e 2005. Mediante as circunstâncias do surto e às mortes causadas pela doença percebeu-se, a importância da vigilância dessa região, sobretudo no que diz respeito ao vetor e seu habitat, a atividade econômica e a precária oferta dos serviços de saúde.

O fato da vacina antirrábica não conferir imunidade duradoura e, considerando que o risco de reexposição ao vírus é real em populações expostas a agressões por morcegos hematófagos, justifica o monitoramento sorológico de uma população vacinada. Tal monitoramento contribuirá para adoção de medidas preventivas mais eficazes, bem como aperfeiçoará as ações de vacinação em regiões vulneráveis ao VRab, resultando em uma estratégia sentinela completa e segura.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

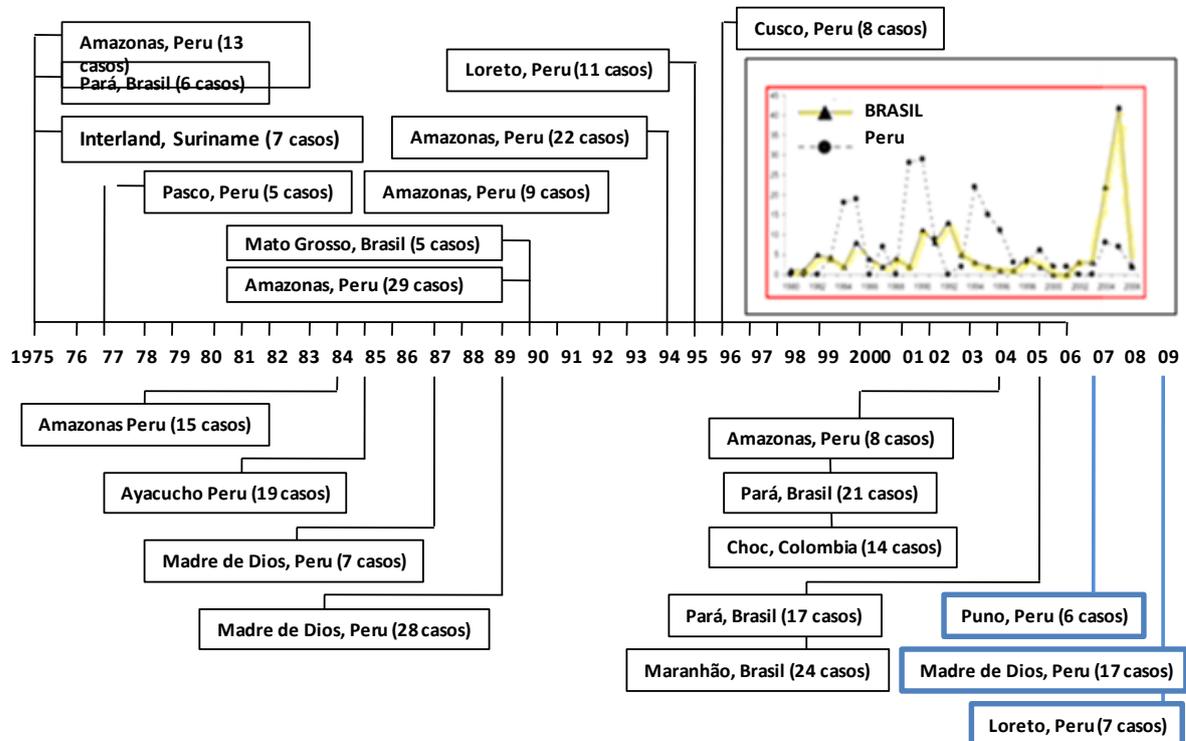
3.1 HISTÓRICO

Escrituras da Mesopotâmia e do Egito há milhares de anos sugerem de que a raiva estaria relacionada à mordedura de cães doentes. Textos da medicina chinesa e indiana descrevem o que parece ser conhecido atualmente como hidrofobia. No século XVI, na Península de Yucatán, no México, colonizadores relataram agressões e casos de raiva humana transmitida por morcegos hematófagos a homens e a outros animais (RUPPRECHT et al. 2002).

No século XIX, uma série de eventos culminou com a produção da primeira vacina antirrábica, entre eles destacam-se: i) Zinke (1804), comprovou a transmissão da raiva entre os animais; ii) Galtier (1879), utilizava coelhos para estudo da raiva; iii) Louis Pasteur (1881 e 1882), ao reduzir a virulência do VRab, modificou a patogenicidade da doença permitindo a produção de uma vacina antirrábica utilizada inicialmente com sucesso em cães e, posteriormente, em humanos; iv) Louis Pasteur (1885), ao vacinar uma criança de 9 anos de idade com múltiplos ferimentos profundos por mordedura de cão sabidamente raivoso obteve seu primeiro sucesso contra a raiva (MARCOVISTZ et al., 2005; BOURHY et al., 2010).

Embora a raiva tenha sido relacionada à mordedura de morcegos hematófagos desde o século XVII, foi somente em 1929, em Trinidad que ocorreu a primeira epidemia descrita de raiva humana causada por vampiros (HURST E PAWAN, 1931; 1932; PAWAN, 1936a, b). Desde então, vários surtos de raiva parálitica foram relatados na América do Sul, e em países como: o Peru (LOPEZ et al., 1992), o Suriname (VERLINDE et al., 1975), a Costa Rica (BADILLA et al., 2003), a Guiana Inglesa (NEHAUL, 1955), o Belize (MCCARTHY, 1989), o Brasil (SCHNEIDER et al., 1996; ROMIJN et al., 2003; BATISTA-DA-COSTA et al., 1993; GONÇALVES et al., 2002; TRAVASSOS DA ROSA et al 2006) e a Venezuela (CARABALLO, 1996). A figura 2 cita diversos surtos de raiva transmitida por morcegos na América Latina, nela podemos observar que o Peru e o Brasil, no período de 1974 a 2006 foram os países com o maior número de casos de raiva notificados.

Figura 2: Série histórica de surtos de raiva transmitida por morcegos na América Latina, 1975 – 2009; Em destaque (vermelho) a comparação entre o número de casos ocorridos no Brasil e no Peru, 1974-2006, e (azul) os surtos ocorridos no Peru, 2006- 2009.



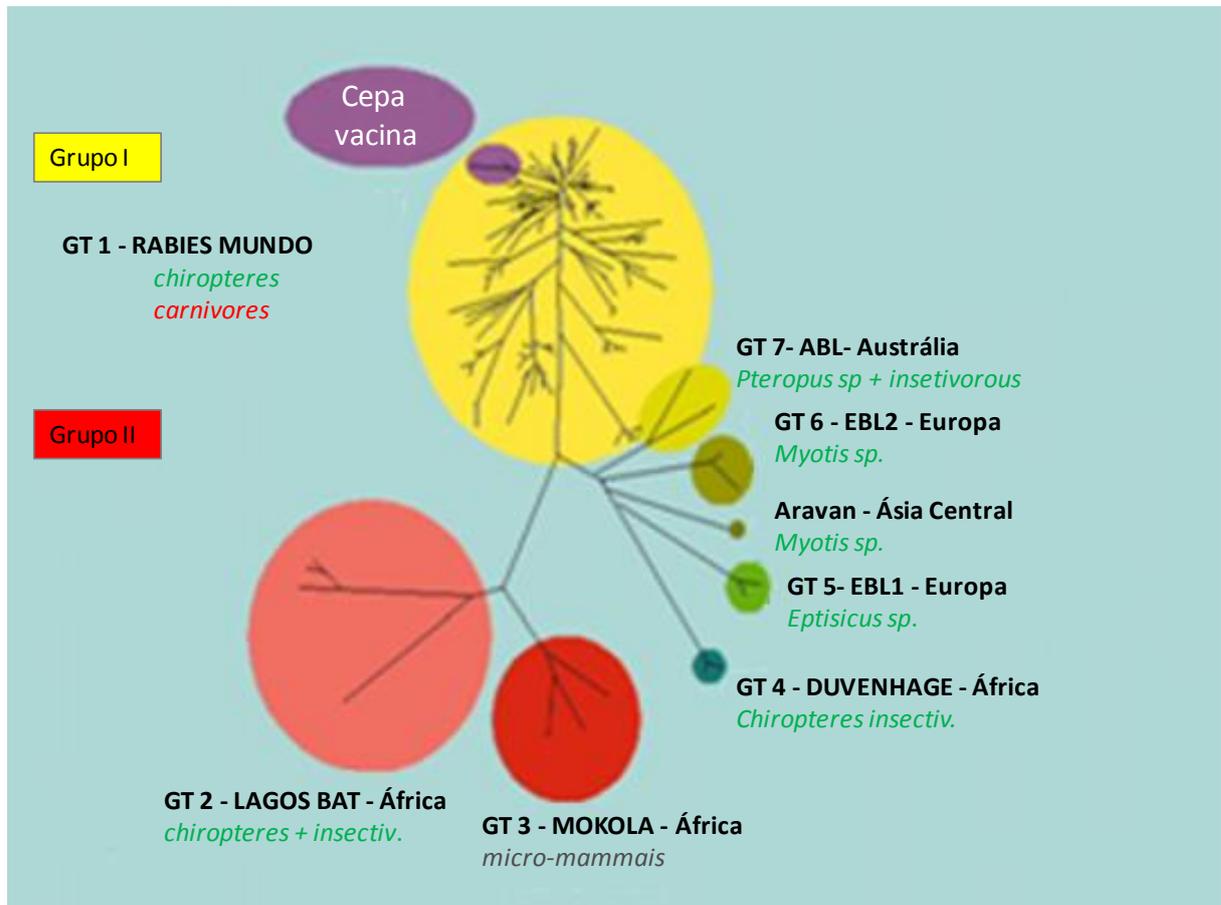
Fonte: Adaptado de Schneider et al., 2009.

3.2 ETIOLOGIA

Segundo o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), o VRab pertence à ordem Mononegavirales, a família *Rhabdoviridae* e ao gênero *Lyssavirus* (ICTV, 2005). Até o início da década de 1970 considerava-se o VRab uma unidade antigênica. O gênero *Lyssavirus* foi inicialmente dividido em quatro sorotipos, denominados e constituído por: sorotipo 1, *Vírus da Raiva* (VRab); sorotipo 2, *Vírus Lagos Bat* (VLB); sorotipo 3, *Vírus Mokola* (VMOK); e sorotipo 4, *Vírus Duvenhage* (VDUV) (ICTV, 2005).

Atualmente, sabe-se que o gênero *Lyssavirus* tem sete genótipos, sendo o genótipo I o *Vírus da Raiva* clássico; o genótipo II, o *Vírus Lagos bat*; genótipo III, *Vírus Mokola*; genótipo IV, *Vírus Duvenhage*; genótipo V, *Vírus European bat lyssavirus 1* (VEBL-1); genótipo VI, *Vírus European bat lyssavirus 2* (VEBL-2); e genótipo VII, *Vírus Australian bat lyssavirus* (VABL) (POUNDER, 2003; ICTV, 2005). O gênero *Lissavírus* pode ainda ser classificado através da análise filogenética em dois filogrupos: filogrupo I (genótipos 1, 4, 5, 6 e 7) e filogrupo II (genótipos 2 e 3) (Figura 3).

Figura 3: Classificação filogenética do gênero *Lyssavirus*.



Nota: Grupo I: genótipos 1, 4, 5, 6 e 7; Grupo II: genótipos 2 e 3; GT= genótipo; LAGOS BAT= *Vírus Lagos Bat*; MOKOLA= *Vírus Mokola*; DUVENHAGE= *Vírus Duvenhage*; ABL1= *Vírus lissavirus de morcego Europa 1*; EBL2= *Vírus lissavirus de morcego Europeu 2*; ABL= *Vírus lissavirus de morcego Australiano*;

Fonte: Cedido por Noel Tordo, Instituto Pasteur-Paris.

Em 2009, o ICTV determinou que os vírus do genótipos do gênero *Lyssavirus* passariam a ser considerados espécies (ICTV, 2005). Desde então, a Família *Rhabdoviridae* foi constituída por 11 espécies virais. Em 2010, Kuzmin e colaboradores ao identificarem o *Vírus Shimoni Bat Lyssavirus* (SHIBV), em morcegos africanos propuseram a décima segunda espécie viral (Quadro 1).

Quadro 1: Espécies da família *Rhabdoviridae* que infectam mamíferos.

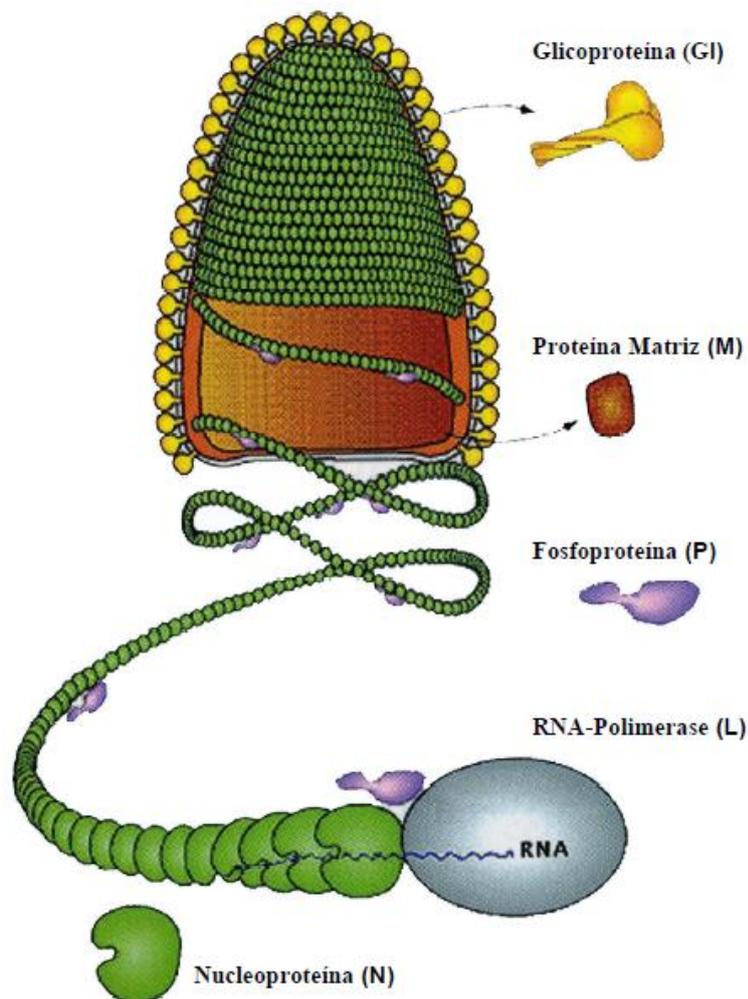
Espécie	Fontes ou reservatórios	Localização geográfica
<i>Vírus Rabies</i>	Canídeos domésticos e selvagens, mustelídeos, viverrídeos e morcegos.	Em todo o mundo, exceto Austrália, Antártida e algumas ilhas.
<i>Vírus Lagos bat</i>	Morcegos frugívoros (<i>Megachiroptera</i>).	África.
<i>Vírus Mokola</i>	Provavelmente morcegos insetívoros e roedores.	África.
<i>Vírus Duvenhage</i>	Provavelmente morcegos insetívoros.	África.
<i>European bat lyssavirus 1</i>	Morcegos insetívoros.	Europa.
<i>European bat lyssavirus 2</i>	Morcegos insetívoros	Europa
<i>Australian bat lyssavirus</i>	Morcegos frugívoros (<i>Megachiroptera</i>) e insetívoros.	Austrália.
<i>Vírus Aravan</i> ⁺	<i>Myotis blythi</i>	Quirguistão- Ásia Central
<i>Vírus Khujand</i> ⁺	<i>Myotis mystacinus</i>	Tajiquistão
<i>Vírus Irkut</i> ^{+*}	<i>Murina leucogaster</i>	Sibéria Oriental
<i>Vírus West Caucasian bat</i> ^{+*}	<i>Miniopterus schreibersi</i>	Montanhas do Cáucaso
<i>Shimoni Bat Lyssavirus</i> ^{**}	Morcegos insetívoros	Africa

Nota: ⁺ Sem classificação genotípica; ^{*} Kuzmin et al., 2005; ^{**} Kuzmin et al., 2010.

Fonte: RUPPRECHT et al., 2002; WARRELL, E WARRELL, 2004; WHO, 2005; LYLES E RUPPRECHT, 2007; ICTV, 2005).

A partícula VRab possui formato de bala de revólver, apresenta 75 nm de diâmetro por 180 nm de extensão, possui um genoma de fita simples de RNA não segmentado, de polaridade negativa que contem cinco genes que codificam cinco proteínas as quais são denominadas: nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína da matriz (M), glicoproteína (G) e polimerase (L) (Figura 4) (ICTV, 2005; DIETZSCHOLD et al., 2008).

Figura 4: Representação esquemática da estrutura do *Vírus da Raiva*.



Fonte: Adaptado de ICTV, 2005.

As proteínas N, P e L formam juntamente com o RNA genômico o complexo ribonucleocapsídico (RNP). O complexo RNP demonstrou ser um importante estimulador antigênico dos linfócitos T auxiliar ($CD4^+$), aumentando a produção de anticorpos neutralizantes contra antígenos intraestruturais. O complexo RNP também tem importante papel no estabelecimento da memória imunológica e imunidade duradoura (DIETZSCHOLD et al., 2008).

A glicoproteína G do VRab induz a produção de anticorpos neutralizantes, os quais são importantes na proteção contra a raiva. Desta forma, a titulação de anticorpos anti-glicoproteína do envelope é um bom indicador do grau de imunidade após a vacinação antirrábica (HEMACHUDHA et al., 2002).

3.3 ETIOPATOGENIA

O mecanismo de patogenicidade do VRab se dá pela inibição da síntese de proteína celular do hospedeiro e pelo tropismo do vírus por nervos periféricos e células do SNC (ABBAS et al., 2000). Após a infecção é provável que ocorra uma primeira replicação do VRab nas células musculares (BLOOD et al., 1983; FERNANDES, 2001), o VRab se liga aos receptores da nicotínicos nos miócitos (tecido muscular) localizados na área da mordedura (CORRÊA E CORRÊA, 1992, JUBB et al., 1993). Outros receptores do VRab foram propostos, tais como: a molécula de adesão da célula neural e o receptor neurotrópico de baixa afinidade P75, ambos sem definição clara (DIETZSCHOLD et al., 2008).

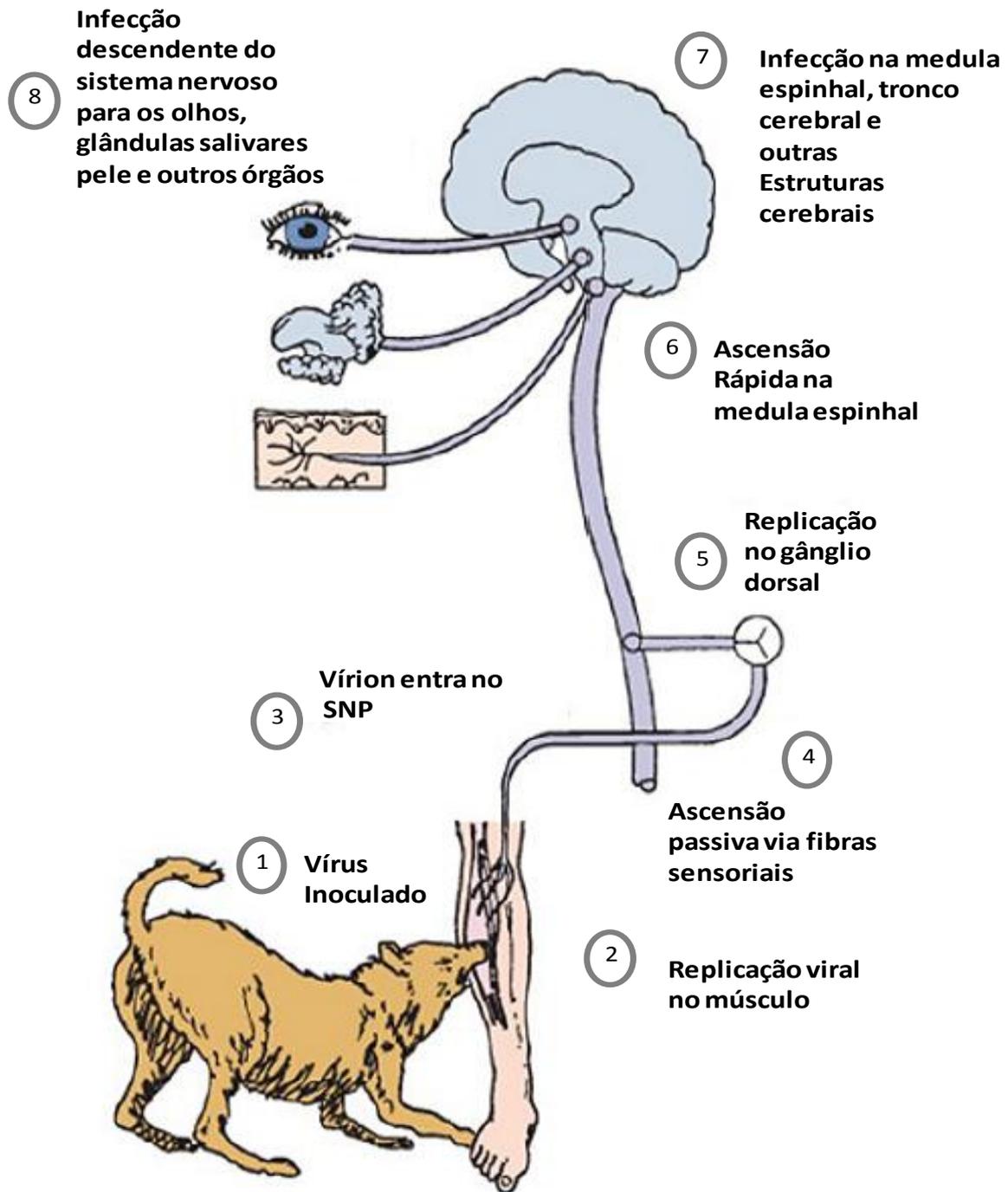
Após a ligação com o receptor, o VRab se internaliza via endocitose; ocorrem mudanças na conformação da proteína G, que ocasionam a alteração do pH celular, levando a liberação do complexo RNP no citoplasma das células do hospedeiro. Infecções intramusculares experimentais de raposas e hamsters com o VRab cepa do tipo selvagem revelam a replicação do agente viral nas células musculares estriadas antes desses invadirem os axônios dos neurônios motores, na junção neuromuscular (DIETZSCHOLD et al., 2008).

Após atravessar a junção neuromuscular, o VRab propaga-se dentro dos axônios de nervos periféricos através do transporte axonal retrógrado. Os VRab se replicam em tecidos não nervosos ou penetram em nervos periféricos e migram em fluxo axoplásmico retrógrado com velocidade migratória de 15 a 100 mm por dia e o tempo de deslocamento até o SNC depende da distância do local de inoculação. Estudos recentes demonstram que os vírions se beneficiam do transporte axonal das vesículas sinápticas, utilizando-o como mecanismo estratégico para o alcance de longas distâncias nos axônios, chegando a uma velocidade migratória de até 3 mm por hora (WARRELL E WARRELL, 2004; JACKSON E WUNNER, 2008; DIETZSCHOLD; et al., 2008).

O VRab infecta o gânglio da raiz dorsal e as células do corno anterior. No gânglio da raiz dorsal, a replicação do VRab pode ser reconhecida e atacada pelos efetores imunológicos resultando em ganglioneurite, tendo como manifestação clínica a dor no local da mordedura. Uma vez na célula neuronal o VRab se replica rapidamente e dissemina via brotamento da membrana plasmática, com transmissão direta de célula a célula ou por propagação transsináptica. Subsequente a esse processo ocorre o transporte do vírus para os tecidos periféricos de forma centrífuga, através dos axônios de fibras nervosas periféricas, por um mecanismo de fluxo axoplásmico anterógrado que utiliza nervos do sistema simpático ou parassimpático, sensitivos ou motores, mielinizados ou desmielinizados de vários calibres

(Figura 5) (TORDO et al.,1998; RUPPRECHT et al., 2002; WHO, 2005; DIETZSCHOLD et al., 2008; JOHNSON et al., 2008).

Figura 5: Patogênese do *Vírus da Raiva*.



Nota: SNP= Sistema Nervoso Periférico
 Fonte: MURRAY et al., 1992.

A infecção pelo VRab pode causar apenas um dano limitado ou lesões histopatológicas cerebrais pequenas nos indivíduos infectados, aspecto este paradoxal em relação ao quadro clínico neurológico severo. Ao contrário de outras infecções virais do SNC, hemorragia e necrose tecidual não são comuns. A profunda disfunção cerebral se dá pelo dano da função neuronal. Tal dano tem como fatores preponderantes alterações gênicas que resultam nos neurônios infectados a inibição da síntese protéica, culminando com uma neurotransmissão deficiente (DIETZSCHOLD et al., 2008).

Em adição à ausência de lesões histopatológicas importantes, nenhuma resposta imunológica é detectada na maioria dos pacientes com raiva do sétimo ao décimo dia após o início dos sinais clínicos. Uma possível teoria para esse baixo nível de resposta imunológica consiste na imunossupressão provocada pela infecção do SNC ocasionada pelo VRab, com estratégia subversiva do agente que inclui a prevenção da apoptose e a destruição das células T invasoras. O VRab preserva a fisiologia neural, criando assim um “santuário” para a sua replicação (DIETZSCHOLD et al., 2008; FERNANDES et al, 2011).

A regulação da replicação viral também é considerada um importante mecanismo da patogênese da infecção. Para evadir-se da resposta imunológica e preservar a integridade neuronal, o VRab controla a sua taxa de crescimento. Desta maneira, conserva os neurônios que serão utilizados para chegar ao SNC, escapado da resposta imunológica precoce, devido aos mínimos níveis de antígenos produzidos (DIETZSCHOLD et al., 2008).

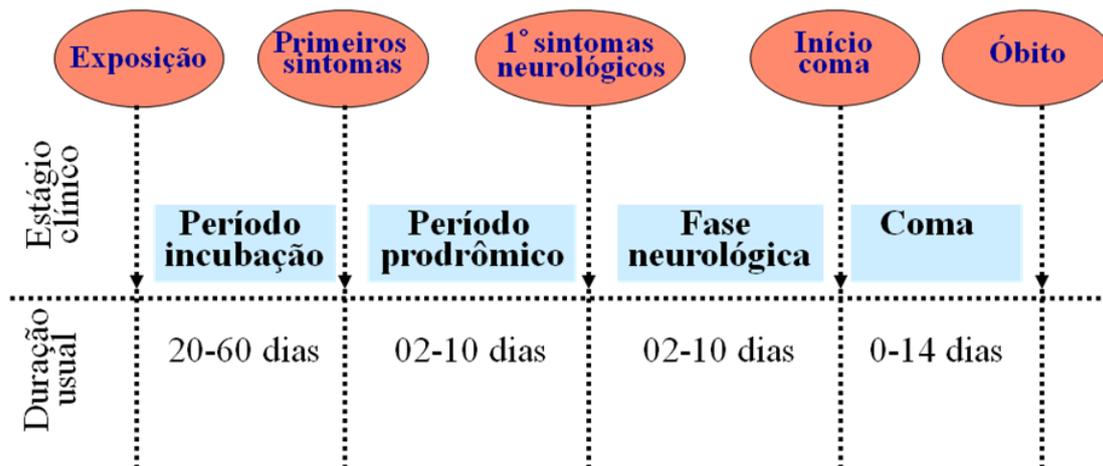
3.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O VRab é neurotrópico e provoca encefalite aguda, que pode se apresentar da seguinte forma: encefálica (raiva furiosa, 70-80% dos casos), ou paralítica (raiva paralítica, 20-30% dos casos). Sem tratamento profilático específico, a mortalidade da raiva após mordedura por cão raivoso varia de 38% a 57% dependendo, da severidade e da localização do ferimento e da concentração viral na saliva do agressor infectado. Depois de instalada, a raiva é uma doença fatal levando ao óbito em sete dias (média de cinco dias) após início dos sintomas na forma encefálica e, em duas semanas na forma paralítica (HEMACHUDHA et al., 2002; JACKSON E WUNNER, 2002).

A evolução clínica da raiva pode ser dividida em cinco estágios: período de incubação, período prodrômico, fase neurológica aguda, coma e morte (Figura 6). O período de incubação mais comum é de um a dois meses, mas pode variar de sete dias a seis anos. Períodos muito curtos foram registrados após inoculação direta do VRab no SNC. O período prodrômico está relacionado a alterações disestésicas no local da lesão como dor,

formigamento e prurido, acompanhados de insônia, seguindo-se de febre, anorexia, cefaléia, agitação que se instalam de dois a cinco dias (HEMACHUDHA et al., 2002; MARCOVISTZ et al., 2005).

Figura 6: Evolução clínica da raiva.



Fonte: Cedido por Rita Medeiros, UFPA.

A fase neurológica aguda da raiva clássica é caracterizada por disfunção mental. Em sua forma furiosa, a hiperexcitabilidade é agravada pelas sensações de sede, medo, luz, barulho e outros estímulos. A febre se mantém e em 24 horas o indivíduo evolui com flutuação no nível de consciência, espasmos inspiratórios ou fóbicos, e sinais de estimulação autonômica se instalam. O estado mental alterna entre períodos de normalidade, agitação severa e depressão. Aerofobia e hidrofobia podem aparecer isoladamente. Durante os espasmos induzidos o paciente apresenta *facies* de medo e salivação intensa (sialorréia). Miose ou midríase, piloereção localizada ou generalizada, edema pulmonar neurogênico, sudorese profusa, priapismo e ejaculações espontâneas podem estar presente. (HEMACHUDHA et al., 2002).

Na forma paralítica o diagnóstico clínico de raiva é mais difícil. Os sinais aparecem tardiamente e não são proeminentes, espasmos ocorrem em cerca de 50% dos pacientes e geralmente iniciam no membro agredido e progride para os outros membros e músculos respiratórios. Outros achados são diparesia facial, febre persistente, disfunção vesical e presença de edema à percussão de certos grupos musculares (HEMACHUDHA et al., 2002).

Depois de instalado o coma, o paciente apresenta espasmos inspiratórios, difíceis de detectar na raiva paralítica, taquicardia sinusal desproporcional a febre, arritmia ventricular ou supraventricular por provável mecanismo de lesão viral do sinus ou nó atrioventricular e

miocardite. O coma precede a hematêmese, registrada em 30 a 60% dos casos, e a insuficiência circulatória que precede o óbito na maioria dos casos (RUPPRECHT et al., 2002).

3.5 EPIDEMIOLOGIA

A raiva é encontrada em todos os continentes, exceto na Antártida. Países como o Uruguai, a Jamaica, as Ilhas do Caribe, a Espanha, a Irlanda, a Grã-Bretanha, os Países Baixos, a Bulgária, o Japão, Barbados e Portugal, apresentam distribuição variável ou são livres da raiva (REZENDE et al., 1997).

No Brasil, a primeira notificação da raiva em animais ocorreu em Santa Catarina (1906), quando havia a suspeita de uma nova doença, ainda não descrita. Apenas em 1911, Carini demonstrou que a epizootia era causada pelo VRab e o possível envolvimento do morcego como transmissor para os bovinos (MARCOVISTZ et al., 2005; SCHNEIDER E SANTOS-BURGOA, 1995). No Brasil, a raiva é considerada endêmica, e presume-se que muitos casos não sejam notificados devido à falta de vigilância (ITO et al., 2003; WADA et al., 2011).

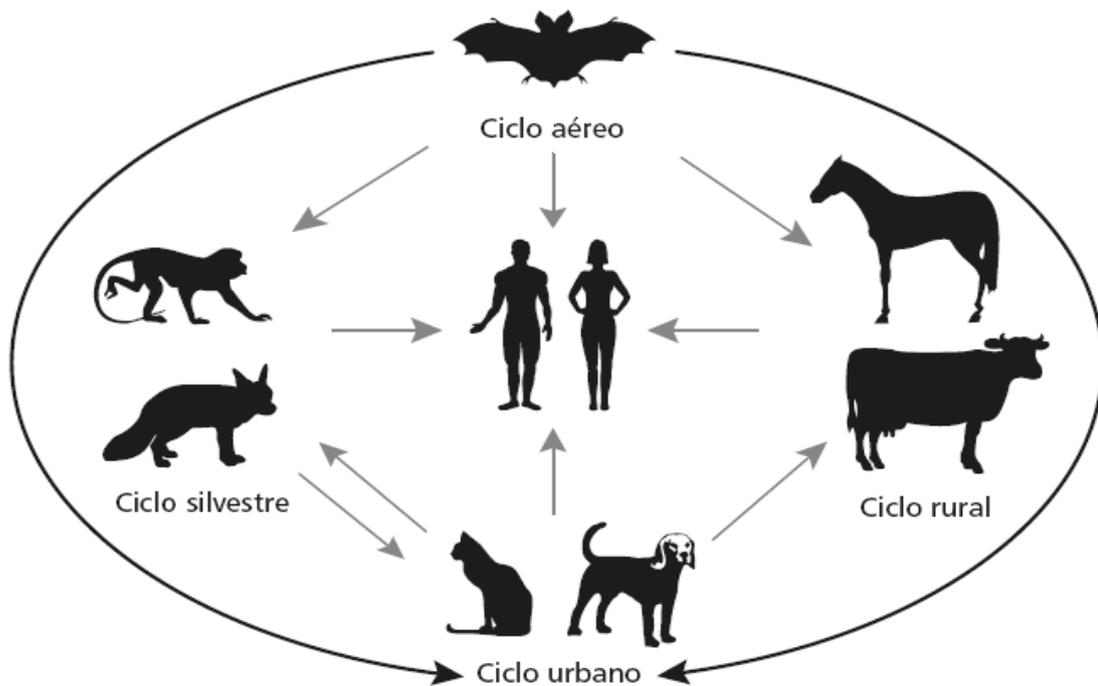
Todas as espécies de animais de sangue quente são susceptíveis à infecção pelo VRab. Canídeos silvestres, guaxinins, morcegos e bovinos estão entre as espécies mais susceptíveis. Cães, gatos, ovinos, caprinos, primatas não humanos, cavalos e seres humanos apresentam susceptibilidade intermediária; e os catinguelês encontram-se entre as espécies de maior resistência. Os animais silvestres são considerados os reservatórios primários, porém os animais domésticos são a principal fonte de infecção do VRab (SWANGO, 1997).

A transmissão do VRab se dá principalmente por acidentes com animais infectados, através de mordidas, contato de feridas abertas e/ou de mucosas com saliva de animal infectado. Também foram descritas a transmissão do VRab através de: transplantes, principalmente os de córnea e fígado (BRONNERT et al., 2007); da manipulação e ingestão da carne de animais infectados com o vírus (DIETZSCHOLD, 2008; WERTHEIM et al., 2009) e da inalação de aerossóis em acidentes de laboratório ou em cavernas habitadas por morcegos infectados pelo VRab (RUPPRECHT et al., 2002; FOOKS et al., 2003; HANLON, 2005; SRINIVASAN, 2005; JACKSON, 2008).

A raiva apresenta quatro ciclos de transmissão, os quais são denominados: ciclo terrestre que ocorre entre animais, essencialmente canídeos silvestres; ciclo aéreo, no qual os morcegos (hematófagos ou não) estão entre os mais transmissores; o ciclo rural, o qual o VRab é transmitido a bovídeos e equídeos pelos morcegos hematófagos; e o ciclo urbano,

onde cães e gatos são os principais transmissores e/ou hospedeiros do VRab (BRASIL, 2005c; MARCOVISTZ et al., 2005;) (Figura 7).

Figura 7: Ciclo epidemiológico da raiva.



Fonte: Brasil, 2005b.

Canídeos silvestres são importantes reservatórios em diversas regiões do mundo. A raposa vermelha (*Vulpes*) é o principal hospedeiro do VRab encontrado na região subártica, no nordeste da América do Norte, no leste e no centro europeu, na região subártica e na zona temperada da Ásia. Nas regiões Árticas da América do Norte e na Ásia, a raposa ártica (*Alopex lagopus*) é o principal hospedeiro do VRab. De forma semelhante, o chacal (*Canis sp.*), é o hospedeiro do VRab no sudeste da África e, provavelmente, em áreas mais amplas da Ásia e da África. No Canadá e nos Estados Unidos da América (EUA), o gambá (*Mephitis*) é a espécie mais frequentemente diagnosticada com raiva (TORDO et al., 1998; RUPPRECHT et al., 2002).

Morcegos acometidos pela raiva parecem estar presentes em todos os continentes, inclusive em áreas onde a raiva canina e de outros animais silvestres já foi erradicada, tais como: a Inglaterra e a Austrália. Morcegos hematófagos se alimentam de sangue de vertebrados, principalmente herbívoros, sendo os bovinos a principal fonte de alimento para esses animais. Quando bovinos não são abundantes em determinada área, os morcegos se

alimentam do sangue de outros animais como equinos, caprinos, suínos, caninos e humanos. Dessa maneira, os surtos de raiva transmitidos por morcegos hematófagos estão intimamente relacionados às características topográficas e geográficas onde o gado é mantido, bem como as condições ecológicas as quais os morcegos são expostos. (CASTILHO et al, 2010).

Os morcegos hematófagos pertencem a Ordem Chiroptera, subordem Microchiroptera, família *Phyllostomidae*, subfamília *Desmodontinae*, a qual é dividida em três gêneros e igualmente três espécies (*Diphylla ecaudata*, *Diaemus youngi* e *Desmodus rotundus*); todas habitam exclusivamente a região da América Latina, desde o norte do México até o norte da Argentina. A espécie *Desmodus rotundus*, com as subespécies *Desmodus rotundus murinus* e *Desmodus rotundus* são as únicas que agridem mamíferos, incluindo humanos. Somente VRab clássico (genótipo 1) é transmitido pelos morcegos hematófagos (BAER, 1991; SCHNEIDER E SANTOS-BURGOA, 1995; CASTILHO et al, 2010).

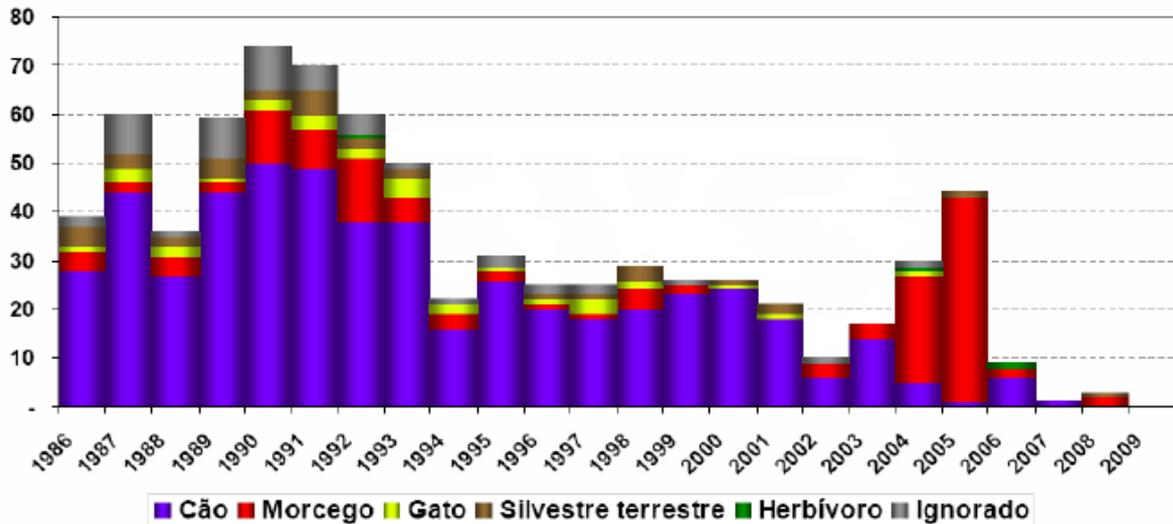
De forma acidental e em menor proporção, os morcegos não hematófagos podem ser portadores e transmissores do VRab ao homem. Os morcegos insetívoros constituem o principal reservatório do VRab em todo o mundo; e morcegos frugívoros também são reservatórios importantes, porém só estão presentes em áreas tropicais (SODRÉ et al., 2010). Casos de raiva transmitida por morcegos insetívoros e frugívoros têm sido relatados em países europeus e na América do Norte. Nos EUA, esses relatos representam 58% dos vetores de transmissão da raiva (desde a década de 1980). Dentre os 863 casos de raiva diagnosticados em morcegos nos anos de 2001 e 2007 no Brasil, 424 (49,1%) foram em não-hematófagos, 250 (29%) em hematófagos, e 189 (21,9%) em espécies não determinadas (BAER, 1991; SCHNEIDER et al., 1996; MARCOVISTZ et al., 2005; SODRÉ et al., 2010).

Nos países em desenvolvimento, especialmente os que se encontram na Ásia e na África o cão é o principal reservatório e transmissor do VRab ao homem. Acidentes com cães infectados pelo VRab são responsáveis pela maior parte dos óbitos no mundo. Os gatos também são vetores eficazes, sendo considerados como uma espécie de alto risco de transmissão para humanos, sobretudo em alguns países da Europa. Para esses animais, a imunização e os programas de controle populacional são eficazes no controle da raiva, tendo sido os responsáveis pela redução do número de casos na América Latina nos últimos anos (HEMACHUDHA et al., 2002; RUPPRECHT et al., 2002).

Por mais de 20 anos, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), vem implementando e incentivado programas regionais de combate à raiva, o que tem sido bastante eficiente. No Brasil, nos anos de 2004 e 2005 observou-se a diminuição do número

de casos de raiva transmitidos por cães e o aumento do número de casos de raiva transmitidos por morcego, conforme observado na figura 8 (BRASIL, 2009a; WADA et al., 2011).

Figura 8: Distribuição da raiva humana por espécie agressora, Brasil; 1986 a maio de 2009.



Fonte: Brasil, 2009a

Em 2004, foi notificado surto de raiva transmitida por morcegos nos municípios de Portel e de Viseu (PA). No total, 21 pessoas morreram de raiva durante o surto ocorrido nessas cidades (15 casos em Portel e 06 casos em Viseu) (BRASIL, 2004a; BRASIL, 2005a; TRAVASSOS DA ROSA et al., 2006). É importante salientar que a taxa de agressão por morcego na região é alta e que 100% dos indivíduos agredidos pelo hospedeiro transmissor, não tinham conhecimento da necessidade de tratamento profilático anti-rábico (CASTILHO et al, 2010).

Em 2005, 15 novos casos de raiva foram registrados no município de Augusto Corrêa (PA), e outros 24 casos, nos municípios de Turiaçu, Godofredo Viana, Carutapera e Cândido Mendes (MA). Os morcegos hematófagos da espécie *D. rotundus* foram os principais transmissores do VRab aos acometidos nessas localidades (BARBOSA et al, 2006; CASTILHO et al, 2010). Esses episódios mobilizaram as autoridades de saúde pública a adotarem de diversas medidas para controlar o surto na região, o que incluiu ampla vacinação em regime de pré e pós-exposição.

As razões para a ocorrência súbita dos surtos de raiva transmitida por morcegos não são bem compreendidas, porém, existem fatores que devem ser considerados para a transmissão do VRab: i) fatores biológicos, tais como: a presença de morcegos hematófagos

na região, a viabilidade de abrigos para esses animais em residências mal estruturadas (sem forro de cobertura e/ou com abertura que possibilite a instalação do animal), a disponibilidade de alimentos e a presença de VRab circulante; e, ii) fatores não biológicos, tais como: o tipo de processo de produção humana que atinge os locais de moradia desses animais, a mudança dos padrões de tais atividades (condições trabalho e de vida), o acesso à profilaxia da raiva, e a falta ou ausência de medidas de controle da população de morcegos (SCHNEIDER et al., 2009).

Com o objetivo do controle dos casos de raiva, em 2006 a Secretaria de Vigilância em Saúde - Ministério da Saúde do Brasil (SVS/MS), por meio de uma portaria, determinou que as epizotias e/ou morte de animais passaram a ser reconhecidas como eventos sentinelas para a ocorrência de doenças em humanos e entraram para a lista de doenças de notificação compulsória e imediata. Em termos gerais, em análise feita pelo SVS/MS no período de 2000 a 2009, mantém-se a redução do número de casos humanos e caninos e percebe-se uma mudança no perfil de ocorrência e transmissão, com 78% dos casos transmitidos por morcegos, sobretudo nos últimos 5 anos, coincidindo com os surtos registrados em 2004 e 2005, além do aumento da detecção de casos em espécies silvestres (WADA et al., 2011).

3.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico da raiva humana é difícil, exceto quando sinais de hidrofobia ou aerofobia estão presentes. O diagnóstico definitivo da raiva só pode ser obtido pela investigação laboratorial. Secreções e fluidos biológicos (saliva, lágrima e LCR) e tecidos (pele da região da nuca) podem ser utilizados para diagnóstico da raiva, com o paciente em vida. A sensibilidade das técnicas laboratoriais varia de acordo com: o estágio da doença, os níveis de anticorpos, a eliminação viral intermitente e o treinamento técnico do examinador. Um resultado positivo confirma o diagnóstico de raiva, porém um negativo não o exclui (WHO, 2005).

A técnica de Imunofluorescência direta (IFD) é utilizada como método de diagnóstico da raiva desde a década de 60, e é atualmente considerada o padrão ouro no diagnóstico da doença. Por sua simplicidade, rapidez e pela baixa taxa de falso negativos (0.1%) a IFD para a pesquisa de antígeno rábico pode ser realizada em biópsia de pele da região da nuca com folículos capilares contendo nervos periféricos. Recomenda-se o exame de pelo menos 20 cortes para detecção de inclusões do nucleocapsídeo viral ao redor da base dos folículos capilares. Atualmente, IFD em impressões de córnea não são mais recomendadas (TORDO E ROTIVEL, 2004; MARCOVISTZ et al., 2005; WHO, 2005).

O isolamento viral pode ser realizado em cultura de neuroblastoma ou inoculação intracraniana em camundongos. Utilizam-se preferencialmente amostras de saliva, lágrima ou LCR. O RNA do VRab pode ser detectado através das técnicas Reação em Cadeia Mediada pela Polimerase precedida de Transcrição Reversa (RT-PCR) em diversos fluidos e amostras biológicas. Devem ser realizadas em combinação com técnicas convencionais, pois podem produzir resultados falso positivos ou falso negativos (WHO, 2005).

Em pacientes não vacinados, os anticorpos neutralizantes aparecem após o oitavo dia do início dos sintomas e são componentes cruciais da resistência imunológica contra a doença. Eles são produzidos contra a glicoproteína do VRab. Globalmente, os testes sorológicos mais utilizados e recomendados para medir a presença de anticorpos neutralizantes são os ensaios de neutralização: Teste de Inibição Rápida de Focos Fluorescentes (do inglês *Rapid Fluorescent Inhibition Test* (RFFIT) ou Teste da Neutralização Fluorescente com anticorpos virais (do inglês *Fluorescent Antibody Virus Neutralization* (FAVN). No entanto, estes métodos exigem vírus vivo, células susceptíveis, microscopia de fluorescência, pessoal treinado e um tempo maior para realização. A Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Gabinete Internacional de Epizootias (GIE) recomendam que uma neutralização com títulos de anticorpos $\geq 0,5$ UI/mL é o suficiente para prevenir a raiva. A dosagem destes anticorpos no soro ou no LCR pode ser realizada através da técnica de Ensaio Imunoenzimático Indireto (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*-ELISA) utilizando proteína rábica purificada, quando o RFFIT não está disponível, e determina os níveis de anticorpos anti-glicoproteína (OIE, 2000; WHO, 2005).

Estudos recentes propõem uma nova técnica para detecção de anticorpos neutralizantes. De maneira mais rápida e fácil a técnica *RAPID Neutralizing Antibody* (RAPINA) baseia-se no princípio da imunocromatografia. A sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos positivo e negativo do teste RAPINA estão sendo avaliados em comparação com as mesmas variáveis do teste de RFFIT (teste padrão), porém mais estudos serão necessários para assegurar a eficácia da técnica (SHIOTA et al., 2009).

O tecido cerebral é o *specimen* clínico preferido para diagnóstico *postmortem* em humanos e animais. Em estudos de campo, quando a necrópsia não é realizada, coleta-se amostras de tecido cerebral via trans-orbital ou trans-*foramen magnum*. No século passado, até a década de 50, análise histopatológica do cérebro para pesquisa de Corpúsculos de Negri era o principal teste laboratorial utilizado no diagnóstico da raiva. Apesar de rápido, o teste apresenta baixa sensibilidade e necessita de técnicos muito bem treinados, sendo substituído com o passar do tempo pela IFD (TORDO et al., 1998; MARCOVISTZ et al., 2005).

A ressonância nuclear magnética de crânio pode ser útil no diagnóstico nas formas encefálicas e paralíticas. Distribuição similar das imagens de discreto hipersinal T2 anormal definidora de doença envolvendo o tronco cerebral, hipocampo, hipotálamo, substância branca profunda e subcortical, substância cinzenta profunda e cortical com vários graus de severidade dependendo do estágio da doença. Realce de contraste aparece claramente apenas nos estágios terminais da doença (HEMACHUDHA et al., 2002; WHO, 2005).

A OMS recomenda investigação diagnóstica da raiva em todos os casos de encefalite. Encefalite pelo *Vírus do Oeste do Nilo* pode apresentar paralisia flácida difusa em 10% dos casos, porém sem padrão de progressão ascendente. O quadro clínico da Encefalite Japonesa inclui fraqueza muscular puramente motora e, assimétrica, semelhante à poliomielite. Sinais de comprometimento do tronco cerebral foram descritos em encefalites pelo enterovírus-71 e pelo *Vírus Nipah*. Doenças como porfiria hepática aguda (distúrbios neuropsiquiátricos), tétano (espasmos musculares) e situações como uso de drogas, ingestão alcoólica e *delirium tremens*, também fazem parte do diagnóstico diferencial da raiva (WHO, 2005).

O principal diagnóstico diferencial da raiva paralítica é com a forma axonal da Síndrome de Guillain Barré (GBS). A GBS apresenta como sintoma principal paralisia ascendente evoluindo com acometimento da musculatura respiratória. Distúrbios metabólicos podem estar presentes em ambos diagnósticos (WHO, 2005).

Exames bioquímicos não são utilizados para o diagnóstico. Hiponatremia é encontrada na maioria dos casos devido ingestão inapropriada, ou síndrome da secreção inapropriada de hormônio anti-diurético. Porém a hipernatremia também pode estar presente. O LCR pode apresentar-se normal ou pleiocitose (HEMACHUDHA et al., 2002).

3.7 TRATAMENTO E PROFILAXIA

Por ser uma doença frequentemente fatal, o tratamento clínico da doença instalada é puramente sintomático com intuito de reduzir o grau de agitação e dar conforto ao paciente e aos seus familiares (HEMACHUDHA et al., 2002). Em 2004, nos EUA, foi relatado o primeiro caso de cura da raiva em um paciente que não recebeu vacina antirrábica. Esse tratamento foi denominado de Protocolo de Milwaukee e baseia-se na utilização de antivirais e na sedação profunda e no controle da disautonomia e do edema cerebral apresentados durante a fase final da doença; o sistema imunológico encarregaria-se da eliminação do VRab (*clearance* viral) (WILLOUGHBY et al., 2005).

Em 2008, no Brasil, na Unidade de Terapia Intensiva do Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco,

localizado no Estado de Pernambuco, realizou-se um tratamento semelhante ao Protocolo de Milwaukee em um jovem de 15 anos de idade, mordido por um morcego hematófago infectado pelo VRab. O tratamento empregado no jovem foi bem sucedido resultando no clearance viral e na recuperação clínica. Diante disso, o MS elaborou o primeiro protocolo brasileiro de tratamento para raiva humana baseado no protocolo americano de Milwaukee. Esse protocolo foi denominado de Protocolo de Recife (ANEXO A), e tem como objetivo orientar o manejo clínico de pacientes suspeitos de raiva, na tentativa de reduzir a mortalidade dessa doença (BRASIL, 2009b).

Atualmente, há relatos bem documentados de outros pacientes que sobreviveram após terem sido infectados pelo VRab. Cinco deles receberam alguma dose de vacina e/ou soro antirrábico antes do aparecimento dos sintomas da doença, porém, o uso de imunoglobulina antirrábica está sendo associado a “morte precoce” de pacientes que manifestaram a doença. Dois pacientes morreram nos cinco anos subsequentes a cura viral, em consequência de complicações relacionadas à seqüela neurológica severa (WILLOUGHBY, 2009).

Nas duas últimas décadas ocorreu um considerável progresso na produção de vacina antirrábica. Atualmente somente vacinas produzidas em culturas de células ou em ovos embrionados purificados são recomendadas pela OMS. Essas vacinas têm sido amplamente estudadas nos últimos anos e apresentam eficácia, imunogenicidade e segurança comprovada, podendo ser administradas em regime de pré ou pós-exposição, em imunodeprimidos e em grávidas. Entretanto, pelo baixo custo, vacinas de tecido cerebral (vacina *Fuenzalida & Palácios*) ainda são amplamente utilizadas em alguns países em desenvolvimento, porém com menor eficácia e com efeitos colaterais severos e prolongados estimados em 0.3 a 0.8 por mil vacinados. Vacinas antirrábicas induzem uma resposta imunológica ativa que inclui a produção de anticorpos neutralizantes que se desenvolvem em sete a dez dias e persistem por dois anos ou mais (SABCHAREON et al., 1999; BRIGGS et al., 2001; WHO, 2005; KULKARNI et al., 2007; SUDARSHAN et al., 2007).

As vacinas mais recentes são produzidas em cultura de células (diplóides humanas, células VERO, células de embrião de galinha e etc.) com amostras de vírus P.V. (cepa Pasteur) ou PITTMAN - MOORE (P.M.) inativados pela betapropiolactona. São apresentadas sob a forma liofilizada, acompanhadas de diluente; devem ser conservadas em geladeira, fora do congelador, na temperatura entre + 2°C a + 8°C, até o momento de sua aplicação, observando o prazo de validade do fabricante. A potência mínima destas vacinas é 2,5 UI/dose. No Brasil, são utilizadas há aproximadamente cinco anos. A *Purified vero cell rabies vaccine*, Verorab®, Sanofi Pasteur (PVRV ou VERORAB) é uma das vacinas mais potentes e

seguras, sobretudo se comparada à Fuenzalida & Palácios modificada, além de ser isenta de risco. (BRASIL, 2005b; TOOVEY, 2007; BRASIL, 2009a).

As imunoglobulinas antirrábicas promovem uma imunidade rápida e passiva que persiste por apenas um curto período de tempo (meia vida de aproximadamente 21 dias). Existem 3 tipos de imunoglobulinas atualmente disponíveis: Imunoglobulina humana hiperimune antirrábica (soro homólogo), imunoglobulina antirrábica equina (soro heterólogo), e produtos F(ab')₂ – porções Fab ligadas – altamente purificados produzidos a partir do soro heterólogo (WHO, 2005; BRASIL, 2005b; BRASIL, 2009a).

A profilaxia pré-exposição tem o intuito de induzir memória imunológica que possa ser reforçada após exposição a um animal potencialmente infectado com o VRab. A profilaxia pré-exposição é recomendada em situações de alto risco de exposição ao VRab, como em profissionais que trabalham com diagnóstico da raiva, pesquisadores em laboratórios, veterinários, manipuladores de animais, reabilitadores de animais, oficiais que trabalham com vida selvagem, entre outros. Viajantes internacionais podem ser candidatos ao esquema pré-exposição se permanecerão por certo período em contato com animais em área onde a raiva canina é enzoótica e o acesso imediato ao tratamento profilático é limitado (TORDO; ROTIVEL, 2004; WHO, 2005; RANNEY et al., 2006).

No Brasil, atualmente, a profilaxia pré-exposição é composta de três doses da vacina de cultivo celular nos dias 0, 7 e 28, administrada por via intramuscular. Profissionais expostos a situações de alto risco de exposição devem ter seus títulos de anticorpos testados a cada 6 meses e devem receber reforço vacinal quando os níveis estiverem abaixo de 0.5 UI/mL. A vacina antirrábica produzida a partir de células VERO purificadas carrega uma baixa taxa de reação adversa, apenas com reação no local da injeção. A vacinação pré-exposição não elimina a necessidade de vacinação após exposição, porém reduz o número de doses da vacina (apenas duas doses de reforço, administradas no intervalo de três dias) e dispensa a imunoglobulina, dessa forma tornando a terapia mais simples e de menor custo (WHO, 2005; BRASIL, 2009a).

Não há registro de óbito por raiva em pacientes que receberam tratamento pré-exposição com doses adequadas seguido de dose de reforço pós-exposição. Em estudo controlado e randomizado, envolvendo estudantes de medicina veterinária vacinados com 3 doses da vacina antirrábica de célula diplóide humana por via intradérmica, concomitante com profilaxia para malária com cloroquina, encontrou-se redução na produção primária de anticorpos (PAPPAIOANOU et al., 1986; WARRELL WARRELL, 2004; WHO, 2005).

O tratamento pós-exposição tem sido realizado desde o final do século XIX e é considerado uma urgência médica. O esquema utilizado deve levar em consideração as características do ferimento e as condições do animal agressor (ANEXO B). Nos acidentes classificados na “Categoria III” da OMS (acidentes graves), o tratamento pós-exposição completo consiste em: limpeza do ferimento, vacinação e infiltração da imunoglobulina. O ferimento deve ser lavado imediatamente com água, sabão e/ou um antisséptico viruscida. A imunoglobulina (Ig) humana ou equina deve ser administrada apenas uma vez, para pacientes não vacinados previamente, juntamente com a primeira dose da vacina ou até o sétimo dia, enquanto a produção de anticorpos em resposta a vacina se desenvolve. A Ig, em parte, deve ser infiltrada no local da lesão e, o volume restante, em local distante da vacina. Cinco doses da vacina são recomendadas nos dias 0, 3, 7, 14 e 28. A observação do animal agressor por dez dias é válida somente para cães e gatos. Porém uma revisão de estudos publicados mostrando cronogramas alternativos para tratamento pós-exposição demonstra que títulos aceitáveis de imunização são alcançados 14 dias após a terceira dose da vacina intramuscular mantendo-se por meses a anos após, administrada junto da imunoglobulina antirrábica. Outro estudo mostra que em regime de quatro injeções intradérmicas com vacina de células embrionárias purificadas de galinha ou VERORAB, promove a manutenção de títulos aceitáveis de soroproteção a partir do décimo quarto dia da primeira dose da vacina, mantendo-se por pelo menos 104 dias (WHO, 2005; AMBROZAITIS et al., 2006; BRASIL, 2009a; RUPPRECHT et al., 2009).

Estudos recentes avaliaram a possível soroconversão na vigência de um esquema incompleto de profilaxia pós-exposição. Os resultados confirmaram que, os indivíduos que receberam apenas 4, ou até 3 doses, demonstraram soroconversão. Nos dois grupos, o número médio de dias entre a última dose da vacina e a coleta da sorologia foi longo (cerca de 5 meses), o que sugere que a queda significativa dos títulos de anticorpos não ocorre imediatamente na ausência da quarta ou quinta dose (ROBERTSON et al., 2010).

Em certos países, 50% das vítimas de raiva são crianças (WHO, 2005). Certos autores questionam o fato de que visitantes destes países recebam profilaxia pré-exposição, enquanto que a população mais vulnerável de crianças vivendo na área de alto risco é deixada desprotegida (LONG, 2007). Estudos de farmacoeconomia têm demonstrado a vantagem em se estabelecer um programa de vacinação pré-exposição em escolares nestas regiões, porém os dados ainda são insuficientes para expandir esta estratégia para outros países onde a raiva é endêmica. A resposta primária e após reforço em crianças, após administração de vacinas celulares, em pré e pós-exposição e por diversas vias, é adequada (SABCHAREON et al.,

1999). Diversos trabalhos têm sido realizados para avaliar a resposta vacinal e ao reforço da vacina em população de adultos saudáveis com excelente resposta na produção de anticorpos em ambas as situações (BRIGGS et al., 2001; RANNEY et al., 2006; KULKARNI et al., 2007; MALERCZYK et al., 2007). Porém, alguns estudos realizados em grupos de indivíduos com faixa etária acima de 50 anos, apresentam resultados conflitantes quando comparam a resposta imunológica primária e o nível de produção de anticorpos neutralizantes, mas sempre com excelente resposta anamnésica após reforço (MASTROENI et al., 1994; STRADY et al., 2000).

Vacinas antirrábicas têm sido utilizadas por décadas, mas há limitada informação publicada sobre quanto tempo após ter recebido a primeira dose da vacina, o indivíduo continuará desenvolvendo uma resposta anamnésica após uma dose de reforço da vacina ter sido administrada. Atualmente a OMS recomenda duas doses de reforço da vacina (dias 0 e 3) em caso de suspeita de reinfecção quando o primeiro ciclo de doses foi feito há mais de 90 dias (WHO, 2005, MALERCZYK et al., 2007).

Alguns estudos têm demonstrado que, em determinadas populações, apenas uma dose de reforço da vacina antirrábica seria suficiente para garantir a proteção desejada (LEMOS et al., 1992; BRIGGS et al., 2001; VODOPIJA et al., 1997). Além disso, estudos sorológicos têm mostrado títulos de anticorpos neutralizantes superiores a 0.5 UI/mL que podem permanecer nesse nível vários anos após vacinação completa (STRADY et al., 1998; STRADY et al., 2000). Outros encontraram níveis de anticorpos neutralizantes detectáveis e uma boa resposta anamnésica após um ano, mesmo em pacientes que receberam apenas uma dose de vacina (KHAWPLOD et al., 2007).

É preciso avaliar sempre os hábitos dos animais domésticos, bem como os cuidados recebidos pelo cão e gato. Podem ser dispensadas do tratamento as pessoas agredidas por cão ou gato que, com certeza, não tem risco de contrair a infecção rábica. Em caso de dúvida, iniciar o esquema de profilaxia indicado. Se o animal for procedente de área controlada, não é necessário iniciar o tratamento. Manter o animal sob observação e só indicar o tratamento (soro + vacina) se o animal morrer, desaparecer ou se tornar raivoso. Nas agressões por morcegos deve-se indicar a soro-vacinação independente da gravidade da lesão, ou indicar conduta de re-exposição (WHO, 2005).

3.8 IMUNOLOGIA DA VACINAÇÃO ANTIRRÁBICA

As atuais vacinas antirrábicas, constituídas de vírus inativado e produzidas em culturas de linhagens contínuas de células, induzem a produção de Imunoglobulina M (IgM) e Imunoglobulina G (IgG) no quarto e sétimo dia, respectivamente (JOHNSON et al., 2010).

Vários estudos mostram que as respostas persistem por até dois anos após a vacinação. Estudos de transferência passiva sugerem que a IgG fornece a proteção mais eficaz contra a raiva, devido provavelmente à incapacidade da IgM de penetrar nos tecidos. Além disso, anticorpos são detectados frequentemente no soro e raramente no líquido cefalorraquidiano (LCR) coletados dos indivíduos infectados pelo VRab, sugerindo uma resposta imunológica limitada no SNC, local onde ela é mais necessária (JOHNSON et al., 2010).

Em estudos recentes, com imunizações derivadas do VRab, observou-se a indução do recrutamento e/ou ativação de células dendríticas (CDs) no sítio da imunização, comprovado pela expressão dos marcadores celulares $CD11c^+$ e $CD86^+$ nos nódulos linfáticos próximos e no sangue periférico. O recrutamento e/ou ativação das CDs resulta no recrutamento e/ou ativação dos linfócitos T citotóxicos ($CD8^+$), com atividade sobre o clearance viral, e dos linfócitos T $CD4^+$, com atividade relacionada à produção de anticorpos contra o VRab. Ainda são ativados linfócitos B com consequente estímulo à produção de anticorpos, secretados pelos plasmócitos. Os linfócitos B de memória são detectados até 1 mês após a vacinação. O tratamento imediato pós-exposição é a única medida eficaz para a prevenção da raiva (WEN et al, 2010; JOHNSON et al., 2010; MCGETTIGAN, 2010). Recentemente, vários esforços estão sendo feitos na tentativa da criação de uma vacina 'avirulenta', que terá como componente múltiplas cópias da glicoproteína (G) ou outras moléculas que estimulam o sistema imunológico inato (WEN et al, 2010).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença e a manutenção de anticorpos neutralizantes antivírus da raiva em indivíduos previamente vacinados em situações de pré e pós-exposição, em comunidades do município de Augusto Corrêa, Pará, no período de 2007 a 2009.

4.1.2 Objetivos específicos

- Verificar a presença e a manutenção de anticorpos nas diversas faixas etárias e diferentes gêneros.
- Comparar a presença e a manutenção de anticorpos entre os regimes de pré e pós-exposição.
- Descrever a influência das doses de reforço nos títulos de anticorpos neutralizantes.

5 MATERIAIS E METÓDOS

Esse estudo foi classificado como um estudo de Coorte prospectivo analítico. O mesmo foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP como um Projeto de Pesquisa maior, com registro nº 13882 e parecer nº 402/2007 (ANEXO C), sob o título “Persistência de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico após vacinação pré e pós-exposição e doses de reforço, em população de área rural exposta a agressão por morcegos hematófagos no Brasil” e contou com recursos financeiros do Sanofi Pasteur®. O mesmo foi realizado em parceria com o Instituto Pasteur – IP (Paris – França), o Centro de Controle de Zoonoses- CCZ (São Paulo – SP) e o Instituto Evandro Chagas- IEC (Ananindeua – PA). As amostras foram processadas em laboratório de biossegurança nível 2 e 3 (NB2 e NB3), obedecendo às normas e os critérios pré-estabelecidos pelo Comitê Internacional de Biossegurança.

5.1 LOCAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO

Esse estudo faz referência à indivíduos vacinados contra a raiva, residentes nos vilarejos de Araí, de Nova Olinda, de Cachoeira e de Porto dos Campos localizados no município de Augusto Corrêa (PA). Esses indivíduos foram atendidos na Unidade Básica de Saúde da comunidade do Araí, também localizada no município de Augusto Corrêa (PA). O município de Augusto Corrêa possui cerca de 27.000 habitantes e tem como principal atividade econômica a pesca e a agricultura, sendo selecionado para esse estudo devido à ocorrência de surtos de raiva humana transmitida por morcegos hematófagos no ano de 2005. Após esse surto cerca de 3.500 pessoas receberam vacina antirrábica, em esquemas de: pós-exposição com 5 doses (vacina nos dias 0, 3, 7, 14 e 28), ou pré-exposição com 3 doses (dias 0, 7 e 21 ou 28). A vacina utilizada foi a Verorab® preparada a partir da cepa WISTAR PM/WI 38-1503-3M, cultivadas em linhagem contínua de células e adaptadas para cultivo em grande escala sobre microcarreadores.

O tamanho da amostra foi baseado na precisão de soroproteção esperada (intervalo de confiança de 95% - IC 95%). Considerando que a taxa de soroproteção esperada foi de 90% após 3 anos da primovacinação, 140 indivíduos foram suficientes para garantir IC de 5%. Porém, levando em conta uma perda de 30% dos indivíduos após 3 anos da primovacinação, 200 indivíduos foram incluídos. Entretanto, para compensar as perdas de amostras, quantidade de soro insuficiente, análises de subgrupos, o tamanho da amostra foi de 508 indivíduos.

5.2 PROCESSO DE RECRUTAMENTO DA POPULAÇÃO:

O processo de recrutamento da população foi realizado por agentes comunitários dos vilarejos selecionados para o estudo e pela divulgação em cartazes que continham informações sobre a raiva humana transmitida por morcegos hematófagos, a natureza do estudo e como esse seria realizado.

5.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

- Habitantes dos vilarejos selecionados inclusos na lista de registro de vacinação da Secretaria de Saúde de Augusto Corrêa, como imunizados contra a raiva, no ano de 2005;
- Indivíduos que não relataram o desejo de mudança do município de Augusto Corrêa após o início do estudo;
- Indivíduos que estiveram disponíveis as visitas anuais (total de 3 anos) e que aceitaram participar de todas as etapas do estudo;
- Indivíduos que leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, quando possuíam idade superior a 18 anos, ou responsável se menor de idade (APÊNDICE A).

Foram excluídos do estudo todos os indivíduos que não preencheram os critérios, dentre eles os não inclusos na lista de registro de vacinação da Secretaria de Saúde de Augusto Corrêa, os que relataram o desejo de mudança do município após o início do estudo, e ainda os que não estavam disponíveis as visitas anuais (total de 3 anos).

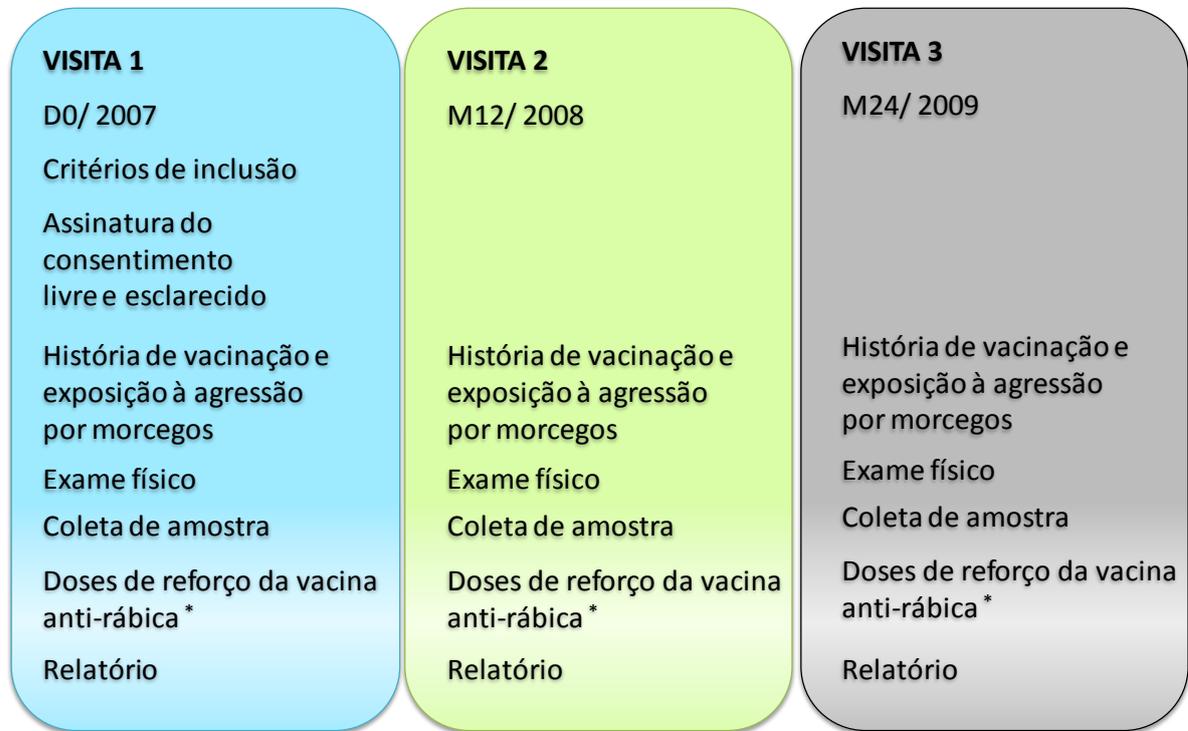
5.4 PROCEDIMENTOS E DESENHO DO ESTUDO

Durante todo o período do estudo, os indivíduos que concordaram em participar foram submetidos à questionário para a coleta das informações abaixo (APÊNDICE B e C) e seguiram o proposto no desenho do estudo (Figura 9):

1. Dados demográficos: data de nascimento, sexo, peso, altura;
2. História médica relevante desde o período de vacinação até a data da investigação: se apresentou condição clínica compatível com diagnóstico de Malária, Tuberculose ou Hanseníase;
3. Medicamentos utilizados desde o período de vacinação até a data da investigação: medicamentos para Malária, soro contra animal peçonhento e outros;
4. História de imunização antirrábica: informação detalhada sobre a vacinação antirrábica administrada em 2005 (tipo de esquema e datas) e ainda a informação de vacinas antirrábicas adicionais após a vacinação de 2005, comprovadas em cartão de vacinação;

5. História de exposição a morcego hematófago ou outros animais vetores do VRab.

Figura 9: Desenho do estudo.



Nota: D=dias; M=meses; A=ano; * Administradas de 3 a 6 meses após cada visita, somente para os indivíduos com título de anticorpos ≤ 0.5 UI/mL.

5.5 COLETA E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES BIOLÓGICAS

Foram colhidos 5 mL de sangue venoso de cada participante do estudo. Os tubos contendo o sangue dos pacientes foram armazenados a 4°C por não mais de 2h antes da centrifugação. Após a centrifugação, o soro foi separado e distribuído em 4 alíquotas de 0,5 mL, as quais foram mantidas a 4°C, por no máximo 4-5 dias, e posteriormente congeladas a -20°C. As quatro alíquotas produzidas foram distribuídas da seguinte forma: 1 alíquota foi enviada ao Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores do CCZ (LabZoo/CCZ) para análise dos títulos de anticorpos neutralizantes, 2 alíquotas foram enviadas ao IP também para a análise de anticorpos neutralizantes, e 1 alíquota foi enviada ao IEC, para ser armazenada em soroteca.

5.6 TESTE RÁPIDO DE INIBIÇÃO DE FOCOS FLUORESCENTE (RFFIT)

O princípio do teste rápido de Inibição de Focos Fluorescente (RFFIT) para determinação de anticorpos neutralizantes anti VRab é a neutralização *in vitro* de uma quantidade constante de vírus ('*challenge virus standard*' [PV] cepa adaptada à cultura de células) após inoculação deste em células susceptíveis ao vírus: BHK-21 C13 (SMITH; YAGER; BAER, 1973). O título do soro é a diluição na qual, 100% do vírus, encontra-se neutralizado. Tal título é expresso em UI/mL após comparação com o título de um soro padrão (WHO *standard for rabies immunoglobulin* [human]) diluído nas mesmas condições do teste.

O teste foi realizado da seguinte forma: os soros dos pacientes foram inativados a 56°C, em banho-maria, por 30 minutos, em seguida foram diluídos (razão 5) da seguinte forma: foram adicionados 20 µL do soro padrão, do soro controle positivo e do soro controle negativo no 1^o orifício da placa, 80 µL de meio Eagle enriquecido com 2,5% de soro bovino fetal (SBF) estéril do 1^o ao último orifício da placa; em seguida foi transferido, com o auxílio de uma micropipeta multicanal, 50 µL do 1^o ao último orifício da placa para obtenção da diluição final e visualização do título (*end point*); adicionado 50 µL de vírus desafio (cepa PV, previamente titulado), contendo de 32 a 100 FFD50/0,05 mL; e em seguida a placa foi incubada por 60 minutos a 35°C em estufa com 5% de CO₂.

Dez minutos antes do término da incubação foi iniciada a tripsinização (descolamento das células da parede da garrafa). Após o descolamento, as células foram ressuspensas com a adição de 10 mL de meio eagle (2,5% de SBF), e posteriormente as células foram contadas em Câmara de Neubauer. Após a contagem das células foi realizado uma diluição, de modo que se obtivesse uma suspensão celular final de $3,7 \times 10^5$ células/mL. Em seguida foi adicionado 50 µL da suspensão de células em todos os orifícios da placa, sendo estas incubadas novamente por 24 horas a 35°C, em estufa com 5% de CO₂. Ao término desse tempo de incubação, as placas foram retiradas da estufa, o meio foi aspirado e descartado utilizando uma pipeta multicanal. A fixação das células nas placas foi realizada pela adição de 70 µL de acetona gelada a 80% (diluída em água MiliQ), seguindo-se uma incubação por 10 minutos em freezer -20°C. Ao passar esse tempo, a acetona foi desprezada por inversão das placas, sendo estas colocadas para secar em estufa 37°C por 10 minutos. Após estarem secas, foi acrescentado, a cada orifício da placa 40 µL do conjugado (*Rabies Conjugate Fujirebio*) diluído segundo as instruções do fabricante; e incubado por uma hora em câmara úmida a 37°C. Posteriormente, o conjugado foi desprezado por inversão das placas, sendo estas lavadas duas vezes com solução salina tamponada e uma com água destilada. O excesso de

água foi retirado colocando as placas invertidas sobre papel absorvente, seguido de secagem em estufa 37°C. Após as placas estarem totalmente secas, foi adicionado 1 gota (25 µL) de solução de glicerina tamponada (pH 8,0/8,5) em cada orifício da placa. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência, e os títulos calculados de acordo com o método de Spearman-Kärber. Foram considerados protetores, títulos $\geq 0,5$ UI/mL (WHO, 2005).

5.7 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Para avaliar a persistência de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico após vacinação pré e pós-exposição e doses de reforço em uma população exposta a agressão por morcegos hematófagos foram aplicados métodos estatísticos descritivos e inferências. A estatística descritiva foi utilizada para apresentar as variáveis quantitativas através de medidas de tendência central e de dispersão. As variáveis qualitativas foram apresentadas por distribuições proporcionais.

A inferência estatística constou da aplicação de testes de hipótese baseados em métodos paramétricos e não-paramétricos. A comparação do perfil imunológico, com base no ponto de corte < 0.5 UI/mL (variável dicotômica), foi realizada pelos testes do Qui-quadrado, binomial duas proporções, Exato de Fisher ou teste G com correção de Williams, conforme as características da amostra. Para as amostras relacionadas, o perfil imunológico foi avaliado pelo teste de McNemar.

A comparação da contagem de anticorpos nas amostras independentes que não apresentavam distribuição normal foi realizada pela análise de variância de Kruskal-Wallis (3 amostras ou mais) ou pelo teste U de Mann-Whitney (2 amostras). Para as amostras que apresentaram distribuição normal utilizou-se o teste *t* de student para amostras independentes.

A comparação da contagem de anticorpos nas amostras pareadas foi realizada pela análise de variância de Friedman (2 ou 3 amostras) ou pelo teste U de Mann-Whitney (2 amostras). Para as amostras que apresentaram distribuição normal utilizou-se o teste *t* de student para amostras relacionadas.

Foi previamente fixado o nível de decisão alfa = 0.05 (Erro alfa = 5%) para rejeição da hipótese de nulidade. Todo o processamento estatístico foi realizado nos programas BioEstat versão 5.3 e Epi Info versão 3.5.2.

6 RESULTADOS

6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS E HISTÓRIA DE IMUNIZAÇÃO ANTIRRÁBICA.

O presente estudo realizou três avaliações, prospectivas, em uma coorte composta por 508 pacientes com potencial de exposição ao vírus rábico, residentes em 4 comunidades (Araí, Cachoeira, Nova Olinda e Porto do Campo) do Município de Augusto Corrêa – PA. Houve perdas no seguimento de indivíduos, permanecendo 465 na segunda visita e 429 na terceira visita.

Na primeira avaliação, o gênero predominantemente foi o masculino (56,7%, n=288), a mediana da idade foi 16 anos com desvio interquartilico entre 8 e 30 anos, e houve maior concentração nas faixas etárias de 2 a 9 anos (28,9%, n=147) e 10 a 19 anos (28,3%, n=143). A maioria realizou esquema vacinal de pós-exposição (88,6%). As perdas não influenciaram nas proporções descritas nas visitas subsequentes, conforme observado na tabela 1.

Tabela 1: Análise demográfica e realização de vacinação em população exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Variáveis		Visita 1 (N=508)	Visita 2 (N=465)	Visita 3 (N=429)
		n (%)	n (%)	n (%)
Gênero	Masculino	288 (56,7)	262 (56,3)	234 (54,5)
	Feminino	220 (43,3)	203 (43,7)	195 (45,5)
Faixa etária	2 a 9 anos	147 (28,9)	139 (29,9)	133 (31,0)
	10 a 19 anos	144 (28,3)	131 (28,2)	119 (27,7)
	20 a 29 anos	88 (17,3)	76 (16,3)	68 (15,9)
	30 a 39 anos	47 (9,3)	43 (9,2)	42 (9,8)
	40 a 49 anos	34 (6,7)	32 (6,9)	28 (6,5)
	50 a 59 anos	31 (6,1)	29 (6,2)	26 (6,1)
	≥ 60 anos	17 (3,3)	15 (3,2)	13 (3,0)
	Município	Araí	136 (26,8)	122 (26,2)
Cachoeira		111 (21,9)	107 (23,0)	97 (22,6)
Nova Olinda		186 (36,6)	169 (36,3)	168 (39,2)
Porto do Campo		75 (14,8)	67 (14,4)	61 (14,2)
Tipo de vacinação	PósExposição	450 (88,6)	410 (88,2)	376 (88,1)
	Pré-exposição	58 (11,4)	55 (11,8)	51 (11,9)

Fonte: Protocolo de pesquisa

6.2 PERFIL IMUNOLÓGICO NAS TRÊS AVALIAÇÕES

Quanto aos níveis de anticorpos protetores observou-se valores significativos ($P = 0,0495$) nas três avaliações, sendo observada média maior na visita 1 (V1) ($1,770 \pm 1,958$ UI/mL) e menor na visita 3 (V3) ($1,340 \pm 1,623$ UI/mL). Houve, também, diferença significativa na comparação entre V1 e V3 ($P = 0,0154$), não encontrada nos demais pares (Tabela 2).

Tabela 2: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico em população potencialmente exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Variáveis	Visita 1	Visita 2	Visita 3
Tamanho da amostra	508	465	429
Mínimo*	0,004	0,100	0,180
Máximo*	13,000	12,630	8,570
Mediana*	1,140	1,000	0,930
Primeiro Quartil*	0,650	0,650	0,610
Terceiro Quartil*	2,000	1,740	1,740
Média Aritmética*	1,770	1,477	1,340
Desvio Padrão*	1,958	1,512	1,623

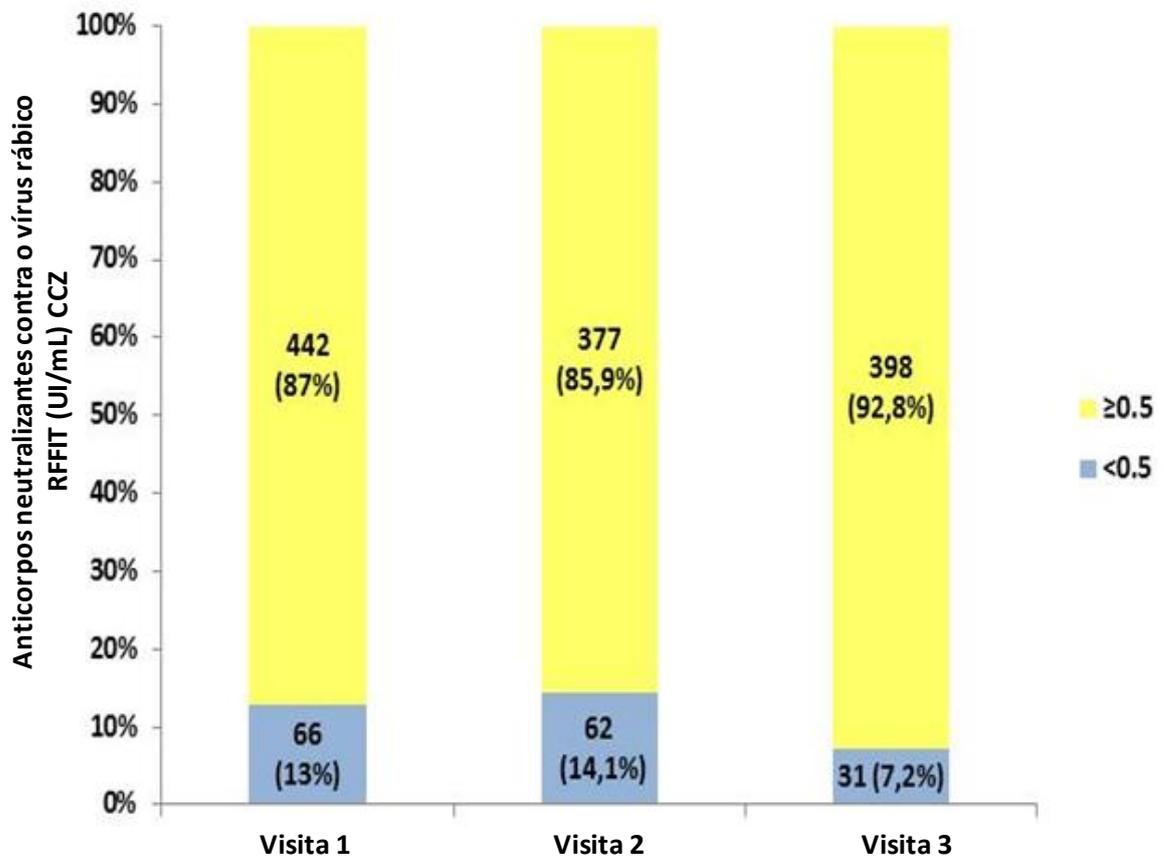
Notas: Teste de Kruskal-Wallis (V1 x V2 x V3), $P = 0,0495$. Teste de Mann-Whitney, $P = 0,1685$ (V1 x V2), $P = 0,0154$ (V1 x V3), $P = 0,2734$ (V2 x V3); *Valores em UI/ML.

Fonte: Protocolo de pesquisa

Na avaliação inicial (Visita 1, em 2007) observou-se que 87% ($n=442$) dos pacientes apresentaram contagem de anticorpos neutralizantes maiores ou iguais a 0,5 UI/mL. Na segunda avaliação (Visita 2, em 2008) essa proporção declinou para 85,9% ($n=337$), e na terceira (Visita 3, em 2009) atingiu o ponto máximo com 92,8% ($n=398$).

Na avaliação da proporção dos títulos de anticorpos protetores ($\geq 0,5$ UI/mL), observaram-se taxas significativamente diferentes entre as avaliações ($P = 0,0028$). Sendo maiores ($P = 0,0113$) em V1 (87%) ao ser comparado a visita 2 (V2) (85,9%) e menores em V1 e V2 em relação à V3 (92,8%) ($P = 0,039$ e $P < 0,0001$, respectivamente) (Figura 10).

Figura 10: Proporção de título de anticorpos protetores em população potencialmente exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

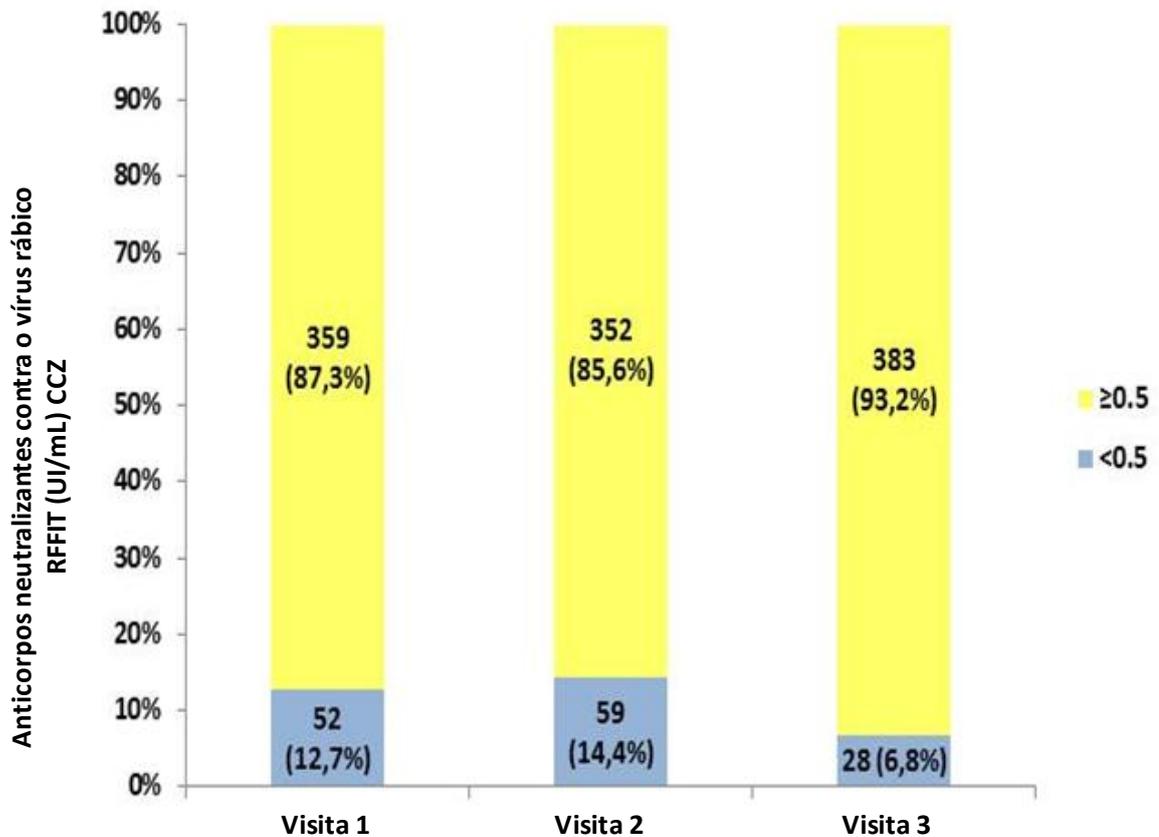


Notas: Teste do Qui-quadrado; $P = 0,0028$ (V1 x V2 x V3). Teste Binomial; $P = 0,0113$ (V1 x V2); $P = 0,0039$ (V1 x V3); $P < 0,0001$ (V2 x V3).

Fonte: Protocolo de pesquisa

Quando considera-se apenas a amostra pareada, ou seja, os indivíduos com dosagens de anticorpos consecutivas nas três observações ($N=411$), aferiu-se na análise de proporção dos níveis protetores de anticorpos maiores percentuais em V3 (93,2%, $n=383$) em relação à V2 (85,6%, $n=352$) e V1 (87,3%, $n=359$), $P = 0,0016$. Essa diferença significativa permaneceu na análise apenas entre as duplas visitas: V1 e V3 ($P = 0,0046$), e V2 *versus* V3 ($P < 0,0001$), conforme o figura 11.

Figura 11: Proporção de título de anticorpos protetores em amostra pareada de população potencialmente exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.



Nota: Teste do Qui-quadrado; $P = 0,0016$ (V1 x V2 x V3). Teste de McNemar; $P = 0,2301$ (V1 x V2); $P = 0,0046$ (V1 x V3); $P < 0,0001$ (V2 x V3).

Fonte: Protocolo de pesquisa

6.3 PERFIL IMUNOLÓGICO SEGUNDO O GÊNERO

Os níveis médios de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, ao serem estratificados segundo o gênero, foram significativamente maiores no gênero feminino em relação ao gênero masculino na primeira ($1,930 \pm 2,007$ UI/mL *versus* $1,649 \pm 1,914$ UI/mL; $P = 0,0193$), segunda ($1,611 \pm 1,491$ UI/mL *versus* $1,374 \pm 1,522$ UI/mL; $P = 0,0018$) e terceira ($1,505 \pm 1,266$ UI/mL *versus* $1,202 \pm 1,053$ UI/mL; $P = 0,0001$) visitas. Não houve diferença nesses níveis entre as visitas para cada gênero, conforme apresentado na tabela 3.

Tabela 3: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo o gênero, em população potencialmente exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

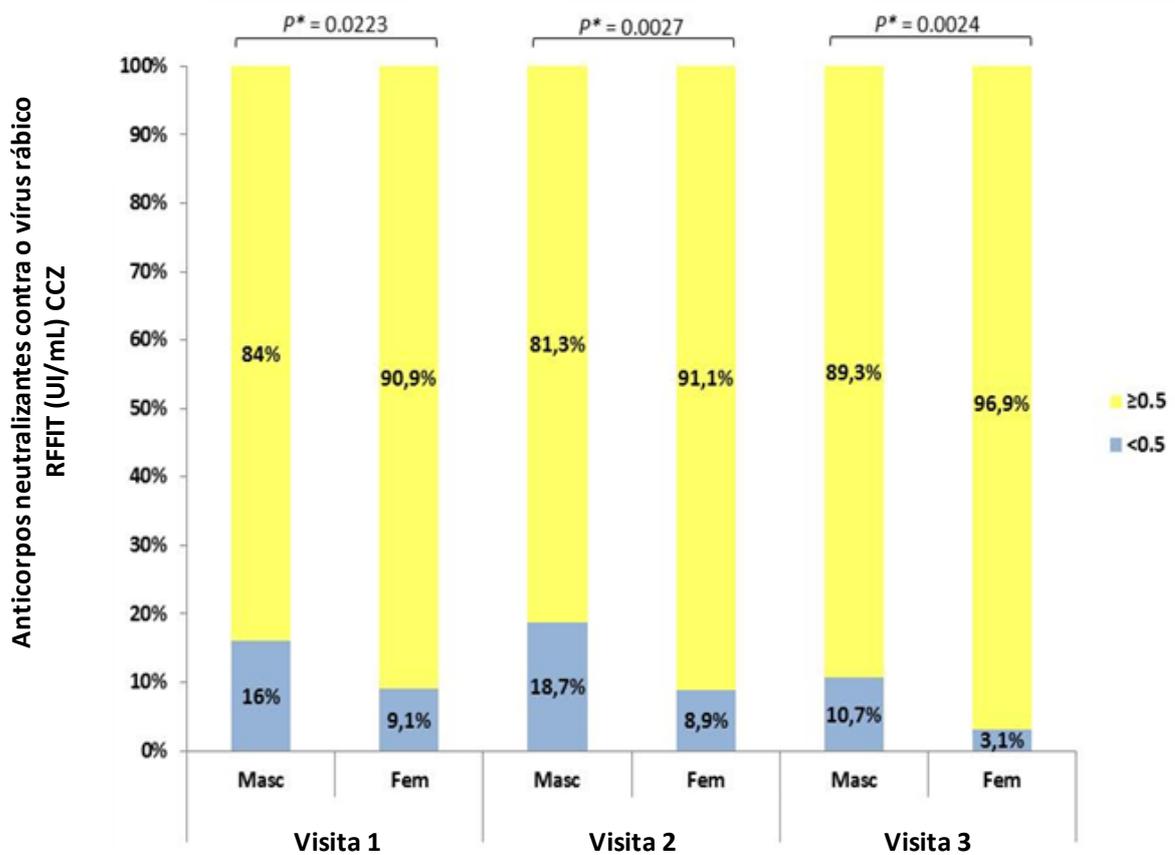
Variáveis	Visita 1		Visita 2		Visita 3	
	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.
Tamanho da amostra	288	220	262	203	234	195
Mínimo*	0,004	0,030	0,100	0,102	0,180	0,260
Máximo*	13,000	9,840	12,630	9,180	6,960	8,570
Mediana*	1,070	1,230	0,930	1,230	0,810	1,070
Primeiro Quartil*	0,610	0,700	0,570	0,785	0,570	0,745
Terceiro Quartil *	1,860	2,140	1,593	1,860	1,485	1,860
Média Aritmética*	1,649	1,930	1,374	1,611	1,202	1,505
Desvio Padrão*	1,914	2,007	1,522	1,491	1,053	1,266

Notas: Masc= gênero masculino; Fem= gênero feminino; Teste de Mann-Whitney; P (Masculino x Feminino) = 0,0193 (V1); 0,0018 (V2); 0,0001 (V3). Teste de Kruskal-Wallis; P gênero masculino (V1 x V2 x V3) = 0,0920; P gênero feminino (V1 x V2 x V3) = 0,3860; * Valores em UI/ml.

Fonte: Protocolo de pesquisa

A avaliação da proporção dos níveis de anticorpos protetores ($\geq 0,5$ UI/mL) nas três observações, demonstrada na figura 12, revelou que indivíduos do gênero feminino apresentaram significativamente maiores taxas quando comparadas as do gênero masculino em V1 (90,9% x 84%; $P = 0,0223$), V2 (91,1% x 81,3%; $P = 0,0027$) e V3 (96,9% x 89,3%; $P = 0,0024$). Entretanto, para cada gênero, não houve diferença significativa entre as três observações.

Figura 12: Proporção de título de anticorpos protetores, segundo gênero, de população potencialmente exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.



Notas: *Teste Binomial. Teste do Qui-quadrado; $P = 0,2754$ (gênero masculino V1 x V2 x V3); $P = 0,1693$ (gênero feminino V1 x V2 x V3).

Fonte: Protocolo de pesquisa

Na amostra pareada, percebeu-se que os níveis médios de anticorpos, estratificados para cada gênero, foram decaindo no decorrer das três observações tanto para o gênero masculino ($P < 0,0001$), quanto para o gênero feminino ($P < 0,0001$). No primeiro grupo, essa diferença foi visualizada nos pares V1 x V2 ($1,528 \pm 1,568$ UI/mL *versus* $1,243 \pm 1,125$ UI/mL; $P < 0,05$); V1 x V3 ($1,528 \pm 1,568$ UI/mL *versus* $1,230 \pm 1,069$ UI/mL; $P < 0,05$) e V2 x V3 ($P < 0,05$). Já para o gênero feminino, a diferença foi aferida entre V1 e V3 ($1,844 \pm 1,844$ UI/mL *versus* $1,508 \pm 1,283$ UI/mL; $P < 0,05$), e V2 x V3 ($1,587 \pm 1,368$ UI/mL *versus* $1,508 \pm 1,283$ UI/mL; $P < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo gênero, em amostra pareada de população potencialmente exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

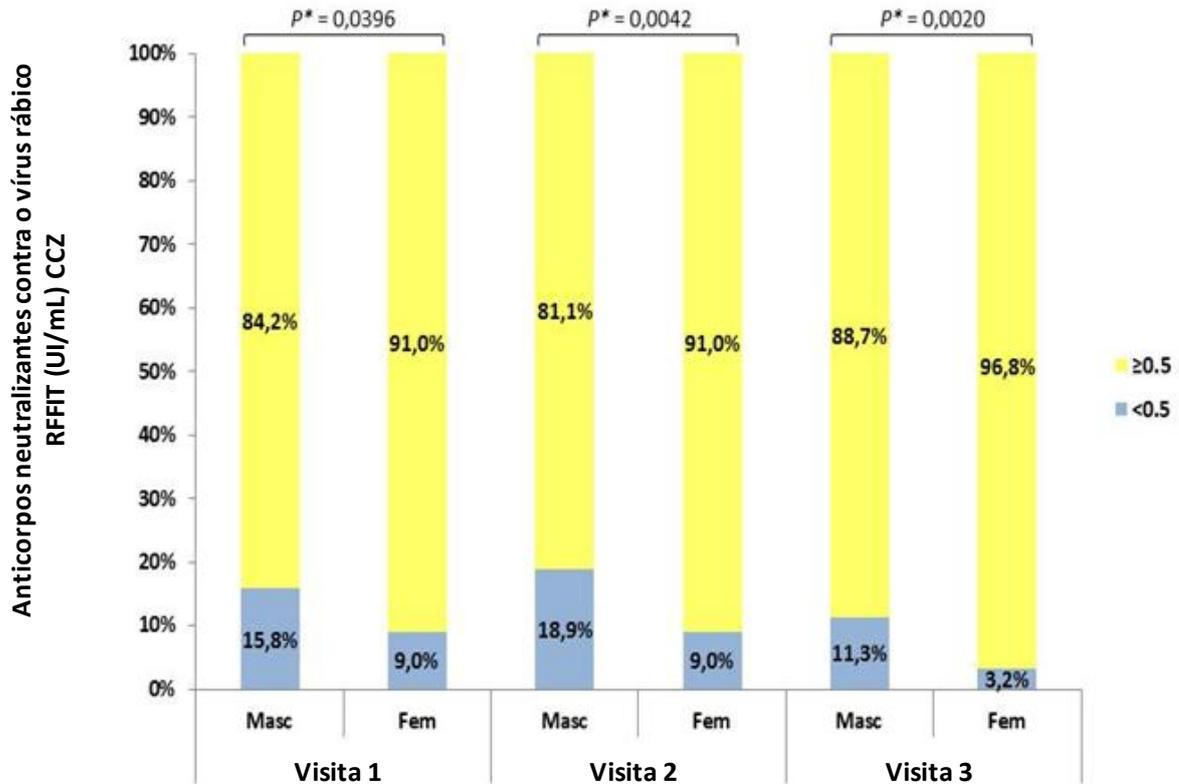
Variáveis	Gênero Masculino			Gênero Feminino		
	V1	V2	V3	V1	V2	V3
Tamanho da amostra	222	222	222	189	189	189
Mínimo*	0,004	0,140	0,180	0,030	0,120	0,260
Máximo*	9,840	9,840	6,960	9,840	9,180	8,570
Mediana*	1,070	0,930	0,830	1,230	1,230	1,070
Primeiro Quartil *	0,570	0,540	0,570	0,700	0,810	0,740
Terceiro Quartil *	1,860	1,510	1,510	2,140	1,860	1,860
Média Aritmética*	1,528	1,243	1,230	1,844	1,587	1,508
Desvio Padrão*	1,568	1,125	1,069	1,844	1,368	1,283

Notas: V1=visita 1; V2=Visita 2; V3=Visita 3; Teste de Friedman; *P* gênero masculino = V1 x V2 x V3 <0,0001; V1 x V2 <0,05; V1 x V3 <0,05; V2 x V3 <0,05; *P* gênero feminino = V1 x V2 x V3 <0,0001; V1 x V2 >0,05; V1 x V3 <0,05; V2 x V3 <0,05; * Valores em UI/ml

Fonte: Protocolo de pesquisa

Na avaliação da proporção dos níveis de anticorpos protetores ($\geq 0,5$ UI/mL), na amostra pareada, identificou-se que indivíduos do gênero feminino apresentaram significativamente maiores taxas quando comparadas as do gênero masculino na V1 (91% x 84,2%; $P = 0,0396$), V2 (91% x 81,1%; $P = 0,0042$) e V3 (96,8% x 88,7%; $P = 0,0020$). Entretanto, para cada gênero, não houve diferença significativa entre as três observações, conforme o figura 13.

Figura 13: Proporção de título de anticorpos protetores, segundo gênero, em amostra pareada, de população potencialmente exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.



Notas: *Teste Binomial. Teste do Qui-quadrado; $P = 0,3247$ (gênero masculino); $P = 0,1813$ (gênero feminino).
 Fonte: Protocolo de pesquisa

6.4 PERFIL IMUNOLÓGICO SEGUNDO A FAIXAS ETÁRIAS

Ao se estratificar a amostra conforme os seguintes grupos etários: 2 a 9 anos, 10 a 19 anos, 20 a 29 anos, 30 a 39 anos, 40 a 49 anos, 50 a 59 anos, e maior ou igual a 60 anos, verificou-se a queda dos níveis de anticorpos neutralizantes, conforme observado na redução dos valores da mediana e das demais medidas de tendência central, com exceção do grupo de 50 a 59 anos, onde houve aumento dos valores, conforme demonstrado na tabela 5.

Tabela 5: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo faixas etárias, em população exposta a agressão por animal potencialmente infectado no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

		Faixas etárias (anos)							Geral
		2 a 9	10 a 19	20 a 29	30 a 39	40 a 49	50 a 59	≥ 60	
Visita 1	Mínimo*	0,030	0,040	0,040	0,050	0,030	0,004	0,040	0,004
	Máximo*	9,840	9,840	9,840	13,000	2,140	2,290	9,840	13,000
	Mediana*	1,410	1,310	0,870	0,810	0,785	0,570	1,230	1,140
	1º Quartil*	0,810	0,750	0,570	0,515	0,508	0,230	0,870	0,650
	3º Quartil*	2,820	2,460	2,035	1,565	1,140	1,035	2,000	2,000
	Média*	2,325	1,890	1,602	1,329	0,849	0,708	1,839	1,770
	D. Padrão*	2,356	1,758	1,825	1,967	0,556	0,605	2,224	1,958
Visita 2	Mínimo*	0,130	0,150	0,150	0,140	0,120	0,100	0,260	0,100
	Máximo*	9,840	9,840	9,180	12,630	5,270	4,920	3,240	12,630
	Mediana*	1,230	1,230	0,840	0,930	0,780	0,650	1,080	1,070
	1º Quartil*	0,810	0,810	0,530	0,478	0,528	0,313	0,620	0,650
	3º Quartil*	1,860	2,000	1,410	1,290	1,230	1,208	1,568	1,740
	Média*	1,759	1,664	1,289	1,303	1,008	0,942	1,205	1,485
	D. Padrão*	1,717	1,504	1,383	2,010	0,955	0,979	0,787	1,502
Visita 3	Mínimo*	0,180	0,260	0,260	0,260	0,280	0,260	0,500	0,180
	Máximo*	8,570	4,920	8,570	5,650	2,290	4,920	4,920	8,570
	Mediana*	1,070	1,140	0,700	0,870	0,700	0,850	0,930	0,930
	1º Quartil*	0,700	0,745	0,523	0,570	0,570	0,570	0,500	0,610
	3º Quartil*	1,740	1,740	1,163	1,230	0,965	1,905	1,310	1,740
	Média*	1,533	1,384	1,123	1,237	0,849	1,407	1,347	1,340
	D. Padrão*	1,390	0,874	1,216	1,142	0,495	1,257	1,263	1,352

Nota: D. Padrão = Desvio-padrão; *Valores em UI/mL.

Fonte: Protocolo da pesquisa

Na comparação entre as avaliações para cada faixa etária, aferiu-se que entre V2 e V1 houve tendência a redução dos valores de anticorpos neutralizantes apenas no grupo de 2 a 9 anos ($P = 0,0553$). Na comparação entre V3 e V1, observou-se redução dos valores de

anticorpos nos diversos grupos etários, com diferença significativa nos grupos de 2 a 9 anos ($P = 0,0027$) e de 50 a 59 anos ($P = 0,0111$). Na comparação entre a V3 e V2, observou-se a tendência ao aumento dos valores de anticorpos no grupo etário de 50 a 59 anos ($P = 0,0781$). Nas demais idades não houve diferença significativa, conforme apresentado tabela 6.

Tabela 6: Variação da mediana de títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo faixas etárias, em população exposta a agressão por animal potencialmente infectado no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Faixas etárias		Diferenças		
		V2 - V1	V3 - V1	V3 - V2
2 a 9 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,180	-0,340	-0,160
	Variação mediana (%)	-12,77	-24,11	-13,01
	P^{\S}	0,0553	0,0027	0,2103
10 a 19 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,08	-0,17	-0,09
	Variação mediana (%)	-6,11	-12,98	-7,32
	P^{\S}	0,4339	0,0962	0,3457
20 a 29 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,03	-0,17	-0,14
	Variação mediana (%)	-3,45	-19,54	-16,67
	P^{\S}	0,3610	0,0909	0,4615
30 a 39 anos	Variação mediana (UI/mL)	0,12	0,06	-0,06
	Variação mediana (%)	14,81	7,41	-6,45
	P^{\S}	0,8148	0,6018	0,8743
40 a 49 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,005	-0,085	-0,08
	Variação mediana (%)	-0,64	-10,83	-10,26
	P^{\S}	0,6123	0,8541	0,4862
50 a 59 anos	Variação mediana (UI/mL)	0,08	0,28	0,2
	Variação mediana (%)	14,04	49,12	30,77
	P^{\S}	0,3438	0,0111	0,0781
≥ 60 anos	Variação mediana (UI/mL)	0	-0,3	-0,3
	Variação mediana (%)	0,00	-24,39	-24,39
	P^{\S}	0,6389	0,3254	0,4896

Nota: V1=visita 1; V2=Visita 2; V3=Visita3 ; \S Teste de Mann-Whitney. Fonte: Protocolo de pesquisa

Ao selecionar a amostra pareada, aferiu-se, entre V2 e V1, se houve redução dos valores de anticorpos nos diversos grupos etários, com diferença estatística significativa nos grupos etários de 2 a 9 anos ($P = 0,0001$), 10 a 19 anos ($P = 0,0002$) e 20 a 29 anos ($P =$

0,0023). Notou-se, ainda, aumento dos valores de anticorpos (35,92%) no grupo etário de 50 a 59 anos ($P = 0,0412$).

Na comparação entre V3 e V1 na amostra pareada, observou-se redução dos valores de anticorpos nos diversos grupos etários, com diferença estatística significativa nos grupos de 2 a 9 anos ($P < 0,0001$), 10 a 19 anos ($P < 0,0001$), 20 a 29 anos ($P < 0,0001$) e 40 a 49 anos ($P = 0,0343$). Aferiu-se, ainda, aumento dos valores de anticorpos nos grupos etários de 30 a 39 anos (7,41%) e 50 a 59 anos (31,07%), com significância estatística apenas no primeiro grupo ($P = 0,0288$).

Observou-se, na comparação entre a V3 e V2, redução dos valores de anticorpos nos diversos grupos etários, com diferença estatística significativa nos grupos de 2 a 9 anos ($P < 0,0001$), 10 a 19 anos ($P < 0,0001$), 20 a 29 anos ($P < 0,0001$), 30 a 39 anos ($P = 0,0018$) e 40 a 49 anos ($P = 0,0021$). Notou-se manutenção dos níveis de anticorpos no grupo etário ≥ 60 anos, contudo sem significância estatística ($P = 0,1489$), conforme apresentado na tabela 7.

Tabela 7: Variação da mediana de títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo faixas etárias, de amostra pareada em população exposta a agressão por animal potencialmente infectado no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Faixas etárias		Diferenças		
		V2 - V1	V3 - V1	V3 - V2
2 a 9 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,180	-0,340	-0,160
	Variação mediana (%)	-12,77	-24,11	-13,01
	<i>P</i> [§]	<0,0001	<0,0001	<0,0001
10 a 19 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,08	-0,17	-0,09
	Variação mediana (%)	-6,11	-12,98	-7,32
	<i>P</i> [§]	<0,0001	<0,0001	<0,0001
20 a 29 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,12	-0,23	-0,11
	Variação mediana (%)	-12,90	-24,73	-13,58
	<i>P</i> [§]	0,0023	<0,0001	<0,0001
30 a 39 anos	Variação mediana (UI/mL)	0,12	0,06	-0,06
	Variação mediana (%)	14,81	7,41	-6,45
	<i>P</i> [§]	0,1599	0,0288	0,0018
40 a 49 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,12	-0,17	-0,05
	Variação mediana (%)	-13,79	-19,54	-6,67
	<i>P</i> [§]	0,3359	0,0343	0,0021
50 a 59 anos	Variação mediana (UI/mL)	0,185	0,16	-0,025
	Variação mediana (%)	35,92	31,07	-3,57
	<i>P</i> [§]	0,0412	0,2207	0,3074
≥60 anos	Variação mediana (UI/mL)	-0,235	-0,235	0
	Variação mediana (%)	-21,27	-21,27	0,00
	<i>P</i> [§]	0,5637	0,1489	0,1489

Nota: V1=visita 1; V2=Visita 2; V3=Visita 3; ***Teste de Friedman.

Fonte: Protocolo de pesquisa

Na análise de proporção, para as faixas de 2 a 9 anos, 10 a 19 anos, 20 a 29 anos, 40 a 49 anos e ≥ 60 anos, não foram observadas diferenças significativas nos percentuais de anticorpos protetores entre as três avaliações, e nas comparações entre os pares de observações (Tabela 8).

Para a faixa de 30 a 39 anos, foi observada diferença estatística significativa ($P = 0,0232$) nos percentuais de anticorpos protetores entre as três avaliações, com tendência a leve

decréscimo da proporção entre V1 (76,6%) e V2 (74,4%), e recuperação em V3 (95,2%). Essa observação foi demonstrada na avaliação entre os pares: V1 x V2 ($P = 0,8103$); V1 x V3 ($P = 0,0129$) e V2 *versus* V3 ($P = 0,0077$), conforme apresentado na tabela 8.

Já para a faixa de 50 a 59 anos, foi observada diferença significativa ($P = 0,0030$) nos percentuais de anticorpos protetores entre as três avaliações, com tendência a aumento progressivo entre V1 (51,6%), V2 (58,6%), e V3 (92,3%). Essa observação foi demonstrada na avaliação entre os pares: V1 x V2 ($P = 0,5856$); V1 x V3 ($P = 0,0008$) e V2 *versus* V3 ($P < 0,0001$).

Tabela 8: Proporção de título de anticorpos protetores, segundo faixa etária, de população potencialmente exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Faixas etárias		Avaliações			P			
		V1	V2	V3	V1xV2	V1xV3	V2xV3	V1xV2 xV3
2 a 9 anos	n	140	130	127	0,5287*	0,9207*	0,4782*	0,7278**
	%	95,2	93,5	95,5				
10 a 19 anos	n	136	121	113	0,4865*	0,8535*	0,4031*	0,6551**
	%	94,4	92,4	95,0				
20 a 29 anos	n	73	59	57	0,3910*	0,8852*	0,3486*	0,5714**
	%	83,0	77,6	83,8				
30 a 39 anos	n	36	32	40	0,8103*	0,0129*	0,0077*	0,0232**
	%	76,6	74,4	95,2				
40 a 49 anos	n	26	25	24	0,8727*	0,3592*	0,4485*	0,6387**
	%	76,5	78,1	85,7				
50 a 59 anos	n	16	17	24	0,5856*	0,0008*	<0,0001*	0,0030**
	%	51,6	58,6	92,3				
≥60 anos	n	16	17	13	1,00 [¥]	0,4928 [¥]	1,00 [¥]	0,3788 [¶]
	%	88,2	93,3	100,0				

Notas: V1=visita 1; V2=Visita 2; V3=Visita 3; *Teste Binomial. **Teste do Qui-quadrado. [¶]Teste G com correção de Williams. [¥]Teste Exato de Fisher.

Fonte: Protocolo de pesquisa

6.6 PERFIL IMUNOLÓGICO SEGUNDO VACINAÇÃO EM REGIMES DE PRÉ-EXPOSIÇÃO OU PÓS-EXPOSIÇÃO

Considerando os esquemas de imunização antirrábica realizados e relacionando com os títulos de anticorpos neutralizantes contra o Vírus Rábico nas três visitas realizadas, observou-se: na primeira avaliação, 58 indivíduos pertenciam ao grupo de pessoas que receberam esquema vacinal em regime de pré-exposição no ano de 2005, com mediana dos níveis de anticorpos de 1,11 UI/mL; outros 450 tinham recebido esquema de pós exposição, com mediana de anticorpos séricos de 1,14 UI/ml, não havendo diferença nas medianas desses grupos ($P = 0,6793$)

Na segunda visita, 55 indivíduos do grupo de regime vacinal de pré-exposição foram analisados, com mediana dos níveis de anticorpos de 1,070 UI/mL. O grupo da pós-exposição foi composto por 410 indivíduos, os quais apresentaram uma mediana de níveis de anticorpos de 1,000 UI/ml, não havendo diferença significativa entre os dois estratos ($P = 0,9191$). Enfim, na terceira avaliação, 51 indivíduos do grupo de pré-exposição foram visitados e a mediana dos níveis séricos de anticorpos foi de 0,81 UI/mL; 378 do grupo da pós-exposição apresentaram mediana de níveis de anticorpos de 1,000 UI/mL. Mais uma vez, não sendo encontrada diferença entre esses grupos ($P = 0,6146$), (Tabela 9).

Tabela 9: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo o tipo de imunização antirrábica, em população potencialmente exposta no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Variáveis	Visita 1		Visita 2		Visita 3	
	Pré	Exp	Pré	Exp	Pré	Exp
Tamanho da amostra	58	450	55	410	51	378
Mínimo*	0,030	0,040	0,100	0,120	0,260	0,180
Máximo*	6,960	13,000	4,920	12,630	4,590	6,570
Mediana*	1,105	1,140	1,070	1,000	0,810	1,000
Primeiro Quartil *	0,765	0,610	0,675	0,650	0,590	0,610
Terceiro Quartil*	1,965	2,101	1,510	1,740	1,410	1,740
Média Aritmética*	1,632	1,788	1,371	1,492	1,275	1,348
Desvio Padrão*	1,500	2,010	1,110	1,558	1,048	1,179

Nota: Pré= pré-exposição; Exp= pós-exposição; Teste de Mann-Whitney; V1 ($P = 0,6793$), V2 ($P = 0,9191$), V3 ($P = 0,6146$); *Valores em UI/mL.

Fonte: Protocolo de pesquisa

6.7 PERFIL IMUNOLÓGICO SEGUNDO DOSES DE REFORÇO

Considerando os resultados do teste RFFIT realizados nas amostras de sangue colhidas durante a primeira visita, 32 indivíduos apresentaram nível sérico de anticorpos abaixo de 0,5 UI/ml, configurando estado não imune ao vírus rábico. Por esse motivo, receberam uma dose de reforço (*Booster*) durante a segunda avaliação (Visita 2)..

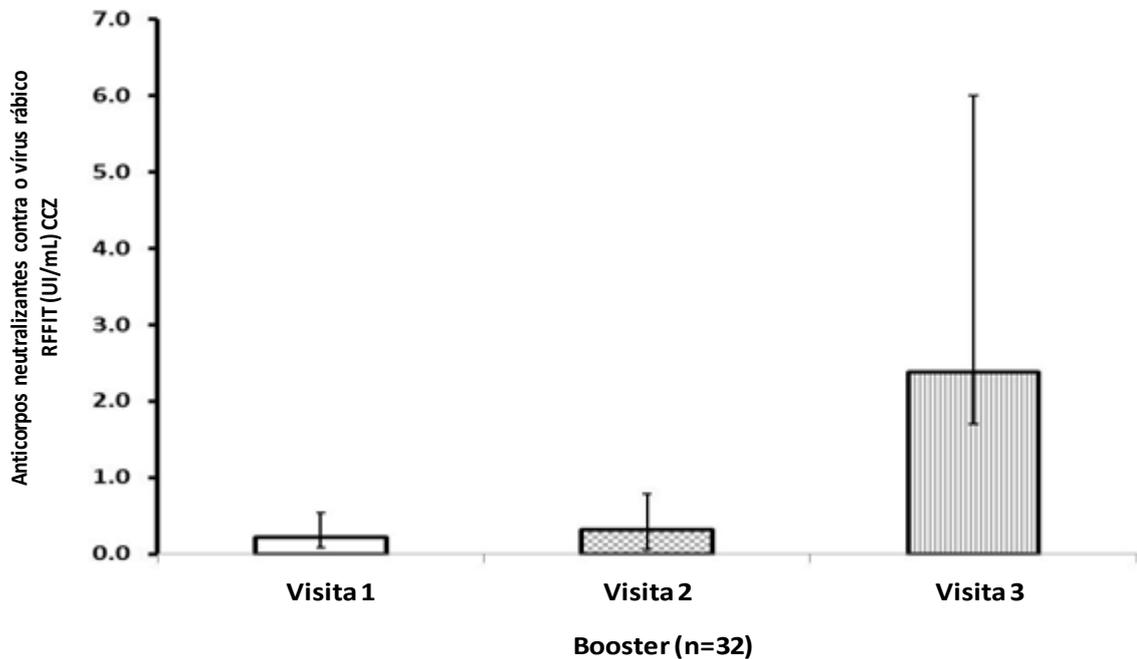
Nesses 32 casos, a mediana dos níveis de anticorpos dosados durante a terceira visita (1 anos após o *Booster*) foi de 2,385 UI/ml, o que mostrou diferença estatística significativa ($P < 0,0001$) quando comparado com os níveis séricos de anticorpos verificados durante a primeira visita (0,220 UI/mL) e a segunda avaliação (0,320 UI/mL), conforme tabela 10 e figura 14. Notando-se ainda padrão similar na figura 15.

Tabela 10: Medidas de tendência central e dispersão de níveis de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, segundo realização de *Booster*, em amostra pareada de população exposta a agressão por animal potencialmente infectado no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.

Variável	Visita 1	Visita 2	Visita 3
Tamanho da amostra	32	32	32
Mínimo*	0,030	0,130	0,370
Máximo*	0,460	1,770	8,570
Mediana*	0,220	0,320	2,385
Primeiro Quartil *	0,138	0,258	0,688
Terceiro Quartil *	0,320	0,460	3,610
Média Aritmética*	0,225	0,445	2,533
Desvio Padrão*	0,128	0,418	2,028

Fonte: Protocolo de pesquisa; *Valores em UI/mL.

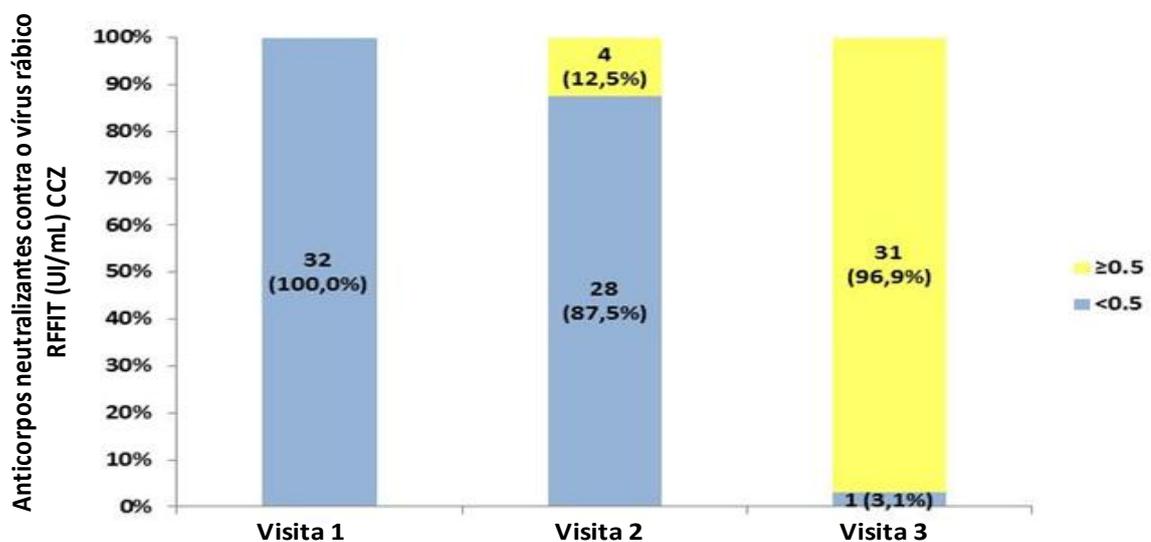
Figura 14: Mediana, primeiro quartil e terceiro quartil de anticorpos protetores, segundo realização de *Booster*, em amostra pareada de população potencialmente exposta ao vírus rábico no Município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.



Nota: Teste de Friedman, $P < 0,0001$; V1 x V2 ($P > 0,05$); V1 x V3 ($P < 0,05$); V2 x V3 ($P < 0,05$).

Fonte: Protocolo de pesquisa

Figura 15: Proporção de anticorpos protetores, segundo realização de *Booster*, em amostra pareada de população potencialmente exposta ao vírus rábico no município de Augusto Corrêa, 2007 a 2009.



Nota: Teste G com correção de Williams, $P < 0,0001$.

Fonte: Protocolo de pesquisa

7 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, as modernas vacinas de cultura celular VERO utilizadas mundialmente, sejam em regime de pré ou pós-exposição, por via subcutânea, intradérmica ou intramuscular, nas distintas faixas etárias, passaram a ser utilizadas em larga escala no mundo e têm sido objetivo de estudos de diversos autores (SABCHAREON et al., 1999; BRIGGS et al., 2001; RANNEY et al., 2006; KULKARNI et al., 2007; MALERCZYK et al., 2007). A potência e efetividade dessas vacinas foram avaliadas em estudos cujo tamanho amostral variou entre 10 (MALERCZYK et al., 2007) e 312 indivíduos (STRADY et al., 2000), onde todos receberam a vacina PVRV (Purified vero cell rabies vaccine, Verorab®, Sanofi Pasteur), liofilizada e inativada, para tratamento pré ou pós-exposição (TOOVEY, 2007; BRASIL, 2002). A casuística do presente estudo (508 indivíduos recrutados na visita inicial, em 2007; e 411 indivíduos, quando considerados os indivíduos participantes do estudo presentes nas três visitas realizadas – 2007, 2008 e 2009) constituiu a maior amostra encontrada na literatura para estudo sorológico de anticorpos neutralizantes contra o *Vírus da Raiva*.

Quando comparados os títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico referentes às três visitas realizadas, constatou-se que houve variação significativa nos títulos protetores nas comparações entre a visita 1 (2007) e a visita 3 (2009), e a visita 2 (2008) e a visita 3 (2009). Ainda, houve aumento da porcentagem dos indivíduos considerados imunes em todas as comparações, segundo o ponto de corte do teste RIFFT (0,5 UI/mL), com significância estatística. Tais resultados demonstram, na amostra analisada, que nos três anos de acompanhamento, os níveis de soroproteção se mantinham estáveis e satisfatórios, com proporção de imunes acima de 85%. Contudo, foi observado a diminuição dos títulos de anticorpos protetores em seus valores absolutos em alguns seguimentos. A porcentagem em crescimento de indivíduos imunes pode estar relacionada às doses de reforço realizadas no período, sobretudo após a visita 2. Esta correlação entre o tempo e o nível de proteção vem sendo descritos por diversos estudos. Strady e colaboradores (1998) acompanharam por 10 anos um grupo de pacientes cujos níveis de soroproteção mantiveram-se dentro do nível aceitável. Malerczyk e colaboradores (2007) mostraram a manutenção de títulos protetores de anticorpos contra o vírus rábico após 14 anos de vacinação e aumento considerável após reforço. Lemos e colaboradores (1992), Vodopija e colaboradores (1997) e Briggs e colaboradores (2001) encontraram boa resposta anamnésica, em determinadas populações, com apenas uma dose de reforço da vacina antirrábica. Por fim, Khawplod e colaboradores (2007), avaliaram indivíduos (voluntário sadios) que receberam pré-exposição incompleta e

encontraram anticorpos neutralizantes detectáveis e uma boa resposta anamnésica após 1 ano, mesmo naqueles que receberam apenas uma dose da vacina.

O presente estudo constatou, na amostra analisada, que houve diferença significativa entre os títulos de anticorpos neutralizantes em relação ao gênero, encontrando-se uma relação evidente entre os maiores títulos de anticorpos protetores e o gênero feminino nas três visitas realizadas. Esse perfil foi observado tanto nas amostras analisadas de forma individual como nas pareadas durante o segmento do estudo. Na literatura, estudos semelhantes, descreveram não haver referência ao gênero como fator de influência para os títulos de anticorpos neutralizantes (STRADY et al., 1998; CUNHA et al., 2010).

No que diz respeito à distribuição por idade, a amostra estudada foi dividida em faixas etárias: 2 a 9 anos, 10 a 19 anos, 20 a 29 anos, 30 a 39 anos, 40 a 49 anos, 50 a 59 anos e 60 anos ou mais. Os níveis de anticorpos neutralizantes presumidos para cada faixa etária indicaram um panorama variado, com redução dos títulos protetores em grande parte das faixas etárias, e elevação na etária de 50 a 59 anos. Foi observado significância estatística em algumas comparações entre a visita 1, a visita 2 e a visita 3.

No que tange à proporção de indivíduos imunes, não houve variação significativa quando comparadas as três visitas nas idades de 2 a 9 anos, 10 a 19 anos, 20 a 29 anos, 40 a 49 anos e 60 anos ou mais. No entanto, nas faixas etárias de 30 a 39 anos e 50 a 59 anos, constatou-se diferença significativa na comparação entre as três visitas, com aumento relevante dos títulos protetores entre a visita 1 e a visita 3, assim como entre a visita 2 e a visita 3. No que diz respeito à eficácia da imunidade, em todas as faixas etárias o perfil imunológico foi satisfatório.

Alguns estudos relacionam o aspecto imunológico com a idade dos investigados, no entanto com divergências em suas conclusões. Dois deles, especificamente, ressaltam essa resposta imunológica diferenciada na vacinação antirrábica em idosos. Em um desses estudos, comparou-se a resposta protetora de indivíduos com idades entre 11-25 e indivíduos com idade superior a 50 anos. Todos os pacientes receberam 5 doses da vacina em esquema de pós-exposição e posteriormente um reforço 90 dias após a última dose, sendo que ambos os grupos etários apresentaram respostas após a quarta dose. Nos indivíduos mais idosos, os níveis de anticorpos produzidos foi 52% menor do que os do grupo mais jovem (MASTROENI et al., 1994). O segundo investigou com 60 indivíduos e a comparação dos níveis de anticorpos protetores entre os indivíduos jovens e os idosos revelou que a média geométrica dos títulos reflete uma resposta menor nos pacientes mais velhos (CEDDIA et al., 1982). Morris e colaboradores (2007) em um estudo para detecção de níveis de anticorpos em

manipuladores de morcegos no Reino Unido demonstrou que, quanto maior idade na vacinação inicial, mais limitada era a resposta dos anticorpos. Em nosso estudo, a melhor resposta imunológica pode ser, em parte, atribuída à realização de doses de reforço em parte da população dentro das faixas etárias de 30 a 39 anos e 50 a 59 anos.

Na amostra estudada, quando considerada o tipo de profilaxia realizada no ano do surto de Raiva no Município de Augusto Corrêa, ocorrido em 2005, foram considerados dois grupos: i) grupo pré-exposição, constituído pelos os indivíduos que receberam três dose da vacina e, o ii) grupo pós-exposição, formado pelos indivíduos que receberam 5 doses da vacina. A comparação demonstrou que não houve variação significativa em relação aos títulos de anticorpos protetores, diferindo da conclusão feita por Strady e colaboradores (2000), que ao acompanharam 176 pacientes durante 10 anos, constataram que os níveis de anticorpos neutralizantes podiam ser modificados pelo regime de injeções e o tipo de vacina usada. Cunha e colaboradores (2010) ressaltaram a diferença entre os títulos satisfatórios de anticorpos quando se consideravam não apenas os regimes vacinais utilizados, mas a via de administração da vacina (intramuscular ou intradérmica), com proteção de até 65% na via intramuscular.

Alguns fatores podem contribuir para a melhor resposta imunológica após a vacinação antirrábica. A realização de dose de reforço, orientada conforme resultado do RIFFT (< 0.5 UI/mL), e indicada para um total de 32 pacientes, durante as três visitas, precisamente na visita 2, demonstrou elevação nos títulos protetores constatados nas visitas subsequentes. Strady e colaboradores (2000) confirmaram, em análises de pacientes previamente vacinados e submetidos à nova dose de vacina, a importância do reforço em até 1 ano para a manutenção da imunidade, podendo estar relacionado com o esquema vacinal realizado em uma primeira abordagem. Estudos realizados por Strady e colaboradores (1998) recomendam, em grupos de risco como veterinários e viajantes destinados às áreas endêmicas, quando o teste RFFIT não se encontra disponível, para manutenção de títulos protetores, que o reforço seja feito com uma periodicidade que varia de uma vez ao ano até uma vez a cada três anos. Diante desta orientação e baseado nos registros de frequentes agressões no município de Augusto Corrêa, a proposta da realização de doses de reforço com periodicidade determinada seria de grande impacto no controle da doença.

Em um trabalho realizado por Morris e colaboradores (2007), foram analisados os fatores que contribuíram para a resposta imunológica após a vacinação antirrábica, antes e depois do reforço, em indivíduos que trabalhavam manipulando morcegos, verificou-se que antes do reforço, apenas a idade influenciava nos níveis de anticorpos, e após o reforço, o tipo

de vacina e a história de agressão recente eram fator determinante. Também foram analisados fatores como o gênero, a frequência de manipulação dos animais e o número de agressões. Contudo, os resultados mostraram-se irrelevantes.

No estudo, a boa resposta imunológica, expressa pelos títulos satisfatórios de anticorpos neutralizantes na grande maioria dos indivíduos, bem como pela manutenção da proteção durante o tempo de realização das visitas, confirma que a vacinação, independente do esquema realizado, ainda apresenta-se como importante estratégia para o controle da Raiva. Estratégia essa que pode ser otimizada pela recomendação da realização de doses de reforço com a certeza de uma resposta mais eficaz, sobretudo para a população de risco, moradora de áreas endêmicas, exposta continuamente à agressões por morcegos, cujo ecossistema em que se encontram não pode ser mudado. Inquestionavelmente, com a vigilância das áreas de risco e incentivo da vacinação nas situações de potencial transmissão, a Raiva passará a ser de uma ameaça constante a apenas parte da história.

8 CONCLUSÕES

- O sexo feminino apresentou as melhores taxas de produção e manutenção de anticorpos após vacinação, considerando os esquemas realizados (pré-exposição, pós-exposição e doses de reforço - conforme a indicação) em relação ao gênero masculino. Entretanto, para cada gênero, não houve diferença significativa entre as três observações.
- Os indivíduos na faixa etária de 30 a 39 anos e 50 a 59 anos demonstraram melhora no perfil imune no decorrer do acompanhamento, com aumento dos títulos protetores, sobretudo na segunda faixa referenciada, quando comparado às outras faixas etárias.
- Os esquemas vacinais realizados em seus regimes (pré e pós-exposição) não influenciaram diferentemente nos níveis de anticorpos neutralizantes.
- A realização de dose de reforço, indicada conforme resultado do RFFIT, teve grande importância na elevação dos títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico, devendo estar padronizado nas estratégias de profilaxia da doença.

9 REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. **Immunity to microbes**. In: Cellular and molecular immunology. 4ed. Estados Unidos da América: Saunders Company, cap 15, seção V, p. 343-362, 2000.
- AMBROZAITIS, A., LAISKONIS, A., BALCIUNIENE, L., BANZHOFF, A., MALERCZYK, C. Rabies post-exposure prophylaxis vaccination with purified chick embryo cell vaccine (PCECV) and purified vero cell rabies vaccine (PVRV) in a four-site intradermal schedule (4-0-2-0-1-1): An immunogenic, cost-effective and practical regimen. **Vaccine**, v. 24, p. 4116–4121, 2006.
- AYRES, M., JUNIOR-AYRES, M., AYRES, D.L., SANTOS, A. S. **BioEstat 5.0. Aplicações estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. p. 364, 2007
- BADILLA, X., PEREZ-HERRA, V., QUIROS, L., MORICE, A., JIMENEZ, E., SAENZ, E., SALAZAR, F., FERNANDEZ, R., ORCIARI, L., YAGER, P., WHITFIELD, S., RUPPRECHT, C. E. Human rabies: a reemerging disease in Costa Rica? **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 6, p. 721-723, 2003.
- BAER, G. M. **The Natural History of Rabies**. In: 2TH EDN. BOCA RATON: CRC PRESS. Florida, p. 620, 1991.
- BATISTA-DA-COSTA, M., FRATARI, R.B., NISHIOKA, A.S. An outbreak of vampire bat bite in a Brazilian village. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 44, p. 219-220, 1993.
- BOURHY, H., DAUTRY-VARSAT, A., HOTEZ, P. J., SALOMON, J. Rabies, still neglected after 125 years of vaccination. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 11, p. 839, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Raiva Humana Transmitida por Morcegos em Viseu, Pará**. Nota técnica. Brasília: MS, p.1, 2004a. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21275>. Acesso em: 15/ 12/ 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Raiva humana transmitida por morcegos no Município de Augusto Corrêa – Estado do Pará**. Nota técnica. Brasília: MS, p. 3, 2005a. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21275>. Acesso em: 15/12/2009.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da Raiva dos Herbívoros Manual Técnico 2005**. Brasília: MAPA/SDA/DAS; p. 104, 2005c.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília: MS, p. 32, 2005b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Programa nacional de vigilância, controle e profilaxia da raiva** . Brasília: MS, p. 31, 2009a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Protocolo para Tratamento de Raiva Humana no Brasil**. Brasília: MS, p. 385-394, 2009b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Número de casos de raiva Humana- Brasil 1990-2012. Nota técnica < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tab_casos_raiva_2012.pdf >. Acesso em: 15/ 07/ 2012.

BRIGGS, D.J., DREESEN, D.W., NICOLAY, U., CHIN, J.E., DAVIS, R., GORDON, C., BANZHOFF, A. Purified chick embryo cell culture rabies vaccine: interchangeability with human diploid cell culture rabies vaccine and comparison of one versus two-dose post-exposure booster regimen for previously immunized persons. **Vaccine**, v. 19, p. 1055-1060, 2001.

BLOOD, D. C., HENDERSON, J. A., HADOSTITS, O. M. **Raiva**. In: Clínica veterinária. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 667-671, 1983.

BRONNERT, J., WILDE, H., TEPsumETHANON, V., LUMLERTDACHA, B., HEMACHUDHA, T. Organ Transplantations and Rabies Transmission. **Journal of Travel Medicine**, v. 14 n. 3, p. 177–180, 2007.

CARABALLO, A.J. Outbreak of vampire bat biting in a Venezuelan village. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, p. 483-484, 1996.

CASTILHO, J. G., CARNIELI JR., P., DURYMANOVA, E. A., FAHL, W. O., OLIVEIRA, R. N., MACEDO, C. I., TRAVASSO DA ROSA, E. S., MANTILLA, A., CARRIERI, M. L., KOTAIT, I. Human rabies transmitted by vampire bats: Antigenic and genetic characterization of rabies vírus isolates from the Amazon region (Brazil and Ecuador). **Virus Research**, n. 153, p. 100-105, 2010.

CEDDIA, T., NATELLIS, C., ZIGRINO, A.G. Antibody response to rabies vaccine prepared in tissue cultures of human diploid cells and inactivated, evaluated in different classes of age. **Ann Sclavo**, v. 24, p. 491-495, 1982.

CORRÊA, W.M., CORRÊA, C.M. **Raiva**. In: *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos*. 2ed. Rio de Janeiro: Medsi, cap. 68, p. 609-628, 1992.

COSTA, W. A. Profilaxia da raiva humana. São Paulo: Instituto Pasteur (Manual Técnico, 4), p. 33, 2000.

CUNHA, R.S. **Estudo de esquemas de pré-exposição contra raiva, através da resposta imune humoral**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo - Curso de pós-graduação em Saúde Coletiva. São Paulo, 2007.

CUNHA, S. R., SILVA, A. C. R., BATISTA, A. M., CHAVES, L. B., BARATA, R. B. Equivalence between pre-exposure schemes for human rabies and evaluation of the need for serological monitoring. **Revista Saúde Pública**, v. 44, n. 3, p. 1-6, 2010.

DIETZSCCHOLD, B., LI, J., FABER, M., SCHNELL, M. Concepts in the pathogenesis of rabies. **NIH Public Access**, v. 3, n. 5, p. 481–490, 2008.

FERNANDES, C.G. **Raiva**. In: RIET-CORRÊA, F., SCHILD, A.L., MÉNDEZ, M. del C.,; LEMOS, R.A.A. *Doenças de Ruminantes e Equinos*. 2ed. São Paulo: Livraria Varela, v. 1, p. 149-162, 2001.

FERNANDES, E. R., ANDRADE JR., H. F., LANCELLOTTI, C. L. P., QUARESMA, J. A. S., DEMACHKI, S., VASCONCELOS, P. F. C., DUARTE, M. I. S. In situ apoptosis of adaptative immune cells and the cellular escape of rabies vírus in CNS from patients with human rabies transmitted by *Desmodus rotundus*. **Virus Research**, n.156, v.1, p.121-126 2011.

FOOKS, A. R., BROOKES, A. R., JOHNSON, N., MCELHINNEY, L. M. & HUTSON, A. M. European bat lyssavirus: an emerging zoonosis. **Epidemiology and infection**, v. 131,p. 1029-1039, 2003.

GONCALVES, M.A., SA-NETO, R.J., BRAZIL, T.K. Outbreak of aggressions and transmission of rabies in human beings by vampire bats in northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 5, p. 461-464, 2002.

HANLON, C. Human rabies prevention. **CDC, Clinician Outreach and Communication Activity**, v. 3, p. 45-78 2005.

HEMACHUDHA, T., LAOTHAMATAS, J., RUPPRECHT, C.E. Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges. **The Lancet**, v. 1, p. 101-109, 2002.

HURST, E.W., PAW, AN, J.L. An outbreak of rabies in Trinidad, without history of bites and with the symptoms of ascending acute myelitis. **The Lancet**, v. 2, p. 622-628, 1931.

HURST, E.W., PAWAN, J.L. A further account of the Trinidad outbreak of acute rabic myelitis. **Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 35, p. 301-321, 1932.

ICTV, International Committee on the Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomy: classification and nomenclature of viruses**. 8ed. FAUQUET, C. M., MAYO, M. A., MANILOFF, J., DESSELBERGER, U., BALL, L. A. (org.) San Diego: Academic Press, p. 1259, 2005.

ITO, M.; ITOU, T., SHOJI, Y., SAKAI, T., ITO, F.H., ARAI, Y.T., TAKASAKI, T., KURANE, I. Discrimination between dog-related and vampire bat-related rabies viruses in Brazil by strain-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. **Journal of Clinical Virology**, v. 26, p. 317-330, 2003.

JACKSON, A.C. WUNNER, W.H. **Rabies**. **Academic Press**, p. 491, 2002.

JACKSON, A.C. Rabies. **Neurologic Clinics**, v.26, p. 717-726, 2008.

JOHNSON, N., FOOKS, A., MCCOLL, K. Reexamination of human rabies case with long incubation, Australia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1950-1951, 2008.

JOHNSON, N., CUNNINGHAM, A.F., FOOKS, A.R. The immune response to rabies virus infection and vaccination. **Vaccine**, v.28, n.23, p. 3896-3901, 2010.

- JUBB, K. V. F., KENNEDY, P. C., PALMER, N. **Patology of Domestic Animals**. 4ed. São Diego: Academic Press, v. 3, p. 653, 1993.
- KHAWPLOD, P., WILDE, H., BENJAVONGKULCHAI, M., SRIAROON, C., CHOMCHEY, P. Immunogenicity study of abbreviated rabies preexposure vaccination schedules. **Journal of Travel Medicine**, v. 14, n. 3, p. 173-176, 2007.
- KULKARNI, P.S., RAUT, S. K., JADHAV, S. S., KAPRE, S. V., DEUSKAR, N. Immunogenicity of Two Modern Tissue Culture Rabies Vaccines in Pre-Exposure Prophylaxis. **Human Vaccines**, v. 3, n. 5, p. 183-186, 2007.
- KUZMIN, I.V., HUGHES, G.J., BOTVINKIN, A.D., ORCIARI, L.A., RUPPRECHT, C.E. Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within the Lyssavirus genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition. **Virus Research**, v. 111 p. 28-43, 2005.
- KUZMIN, I. V., MAYER, A. E., NIEZGODA, M., MARKOTTER, W., AGWANDA, B., BREIMAN, R. F., RUPPRECHT, C. E. Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. **Virus Res**, v. 149, p. 197-210, 2010.
- LEMONS, H. N., SOUZA, M. M., CAMPOS, H. H. V., ABREU, V. L. V., SOARES, I. C. G., REIS, W. Effect of one booster dose in antirabies vaccination. **Biologicals**, v. 20, n. 3, p. 171-175, 1992.
- LYLES, D. S., RUPPRECHT, C. E. **Rhabdoviridae**. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (ed.). *Fields Virology*, 5ed. Lippincott Williams & Wilkins. Cap. 39; p. 1364-1408, 2007.
- LONG, S.S. Evidence favors use of rabies vaccine in rabies-endemic areas. **The Journal of Pediatrics**, v. 3 A, p. 173, 2007.
- LOPEZ, A.R., MIRANDA, P. P., TEJADA, E. V., FISHBEIN, D. B. Outbreak of human rabies in the Peruvian jungle. **The Lancet**, v. 339, p. 408-411, 1992.
- MALERCZYK, C., BRIGGS, D. J., DREESEN, D. W., BANZHOFF, A. Duration of Immunity: An Anamnestic Response 14 Years After Rabies Vaccination With Purified Chick Embryo Cell Rabies Vaccine. **Journal of Travel Medicine**, v. 14, n. 1, p. 63-64, 2007.
- MARCOVISTZ, R. et al. **Raiva**. In: *Dinâmica das doenças Infecciosas e Parasitárias*. 1ed., Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, Cap. 152, p. 1783-1793, 2005.
- MASTROENI, I., VESCIA, N., POMPA, M.G., CATTARUZZA, M.S., MARINI, G.P., FARA, G.M. Immune response of the elderly to rabies vaccines. **Vaccine**, v. 12. p. 518-520, 1994.
- MCCARTHY, T.J. Human depredation by vampire bats (*Desmodus rotundus*) following a hog cholera campaign. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 40, n. 3, p. 320-322, 1989.
- MCGETTIGAN, J. P. Experimental rabies vaccines for humans. **NIH Public Access**, v. 9, n. 10, p. 1177-1186, 2010.

MORRIS, J., CROWCROFT, N.S., FOOKS, A.R., BROOKES, S.M., ANDREWS, N. Rabies antibody levels in bat handlers in the United Kingdom: Immune response before and after purified chick embryo cell rabies booster vaccination. **Human vaccines**, v. 3, n. 5, p. 165-170, 2007.

MURRAY, P.R., DREW, W.L., KOBAYASHI, G.S., THOMPSON, J.R. Rabdovirus, Filovirus e Bornavirus. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 61, p. 619 -626, 1992.

NEHAUL, B.B.G. Rabies transmitted by bats in British Guiana. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 4, p. 550-553, 1955.

OIE. World Organisation for Animal Health. Manual of standards of diagnostic tests and vaccines, 4th ed. **Office International des Epizooties**. Paris, p. 15–23, 276–291, 2000.

PAPPAIOANOU, M., FISHBEIN, D.B., DREESEN, D.W., SCHWARTZ, I.K., CAMPBELL, G.H., SUMNER, J.W., PATCHEN, L.C., BROWN, W.J. Antibody response to preexposure human diploid-cell rabies vaccine given concurrently with chloroquine. **New England Journal of Medicine**, v. 314, p. 280–284, 1986.

PAWAN, J.L. The transmission of paralytic rabies in Trinidad by the vampire bat (*Desmodus rotundus murinus*, Wagner, 1840). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 30, p. 101-129, 1936a.

PAWAN, J.L. Rabies in the vampire bat of Trinidad, with special reference to the clinical course and the latency of infection. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 30, p. 401-422, 1936b.

POUNDER, D. J. Rabies, lyssaviruses and bats. **Scottish Medical Journal**., v. 48, n. 4, p. 99-101, 2003.

RANNEY, M., PARTRIDGE, R., JAY, G. D., ROZZOLI, D. E., PANDEY, P. Rabies Antibody Seroprotection Rates Among Travelers in Nepal: “ Rabies Seroprotection in Travelers ”. **Journal of Travel Medicine**, v. 13, n. 6, p. 329–333, 2006.

REZENDE, M. B. TRAVASSOS DA ROSA, E. S, VASCONCELOS, P. F. C., REZENDE JR. A. B. **Raiva**. In: Doenças Infecciosas e Parasitárias. Enfoque Amazônico. LEÃO, R. N. Q. Belém, Cejup (Ed), p. 377-395, 1997.

ROBERTSON, K., RECUENTO, S., NIEZGODA, M.; GARCIA, E. J., RUPPRECHT, C. E. Seroconversion following incomplete human rabies postexposure prophylaxis. **Vaccine**. n. 28, p. 6523-6526, 2010.

ROMIJN, P. C., VAN DER HEIDE, R., CATTANEO, C. A. M., SILVA, R. C. F., VAN DER POEL, W. H. M. Study of Lyssaviruses of bat origin as a source of rabies for other animal species in the state of Rio Janeiro, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 1, p. 81-86, 2003.

RUPPRECHT, C.E., HANLON, C.A., HEMACHUDHA, T. Rabies re-examined. **The Lancet**, v.2, p. 327-343, 2002.

RUPPRECHT, C.E. et al. Evidence for a 4-dose vaccine schedule for human rabies post-exposure prophylaxis in previously non-vaccinated individuals. **Vaccine**, v. 27, n. 51, p. 7141-7148, 2009.

SABCHAREON, A., LANG, J., ATTANATH, P., SIRIVICHAYAKUL, C., PENGSAK, K., LE MENER, V., CHANTAVANICH, P., PRARINYANUPHAB, V., POJJAROEN-NANT, C.; NIMNUAL, S., WOOD, S.C., RIFFARD, P. A New Vero Cell Rabies Vaccine: Results of a Comparative Trial with Human Diploid Cell Rabies Vaccine in Children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 9, p. 141–149, 1999.

SCHNEIDER, M. C., SANTOS- BURGOA, C. Algunas Consideraciones sobre la rabia humana transmitida por murciélago. **Salud Publica México**, v. 37, p. 354-362, 1995.

SABCHAREON, A., LANG, J., ATTANATH, P., SIRIVICHAYAKUL, C., PENGSAK, K., LE MENER, V., CHANTAVANICH, P., PRARINYANUPHAB, V., POJJAROEN-NANT, C., NIMNUAL, S., WOOD, S.C., RIFFARD, P. A New Vero Cell Rabies Vaccine: Results of a Comparative Trial with Human Diploid Cell Rabies Vaccine in Children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, p. 141–149, 1999.

SCHNEIDER, M. C., SANTOS- BURGOA, C. Algunas Consideraciones sobre la rabia humana transmitida por murciélago. **Salud Publica México**, v. 37, p. 354-362, 1995.

SCHNEIDER, M. C., SANTOS-BURGOA, C., ARON, J., MUNOZ, B., RUIZ-VELAZCO, S., UIEDA, W. Potential force of infection of human rabies transmitted by vampire bats in the Amazonian region of Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, n. 6, p. 680-684, 1996.

SCHNEIDER, M.C., ROMIJN, P.C., UIEDA, W., TAMAYO, H., DA SILVA, D.F., BELOTTO, A., DA SILVA, J.B., LEANES, L.F. Rabies transmitted by vampire bats to humans: An emerging zoonotic disease in Latin America? **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 25, n. 3, p. 260–269, 2009.

SHIOTA, S., MANNEN, K., MATSUMOTO, T., YAMADA, K., YASUI, T., TAKAYAMA, K., KOBAYASHI, Y., KHAWPLOD, P., GOTOH, K., AHMED, K., IHA, H., NISHIZONO, A. Development and evaluation of a rapid neutralizing antibody test for rabies. **Journal of Virological Methods**, v. 161, n. 1, p. 58-62, 2009.

SMITH, J., YAGER, P., BAER, G.M. A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibodies. **Bull W.H.O**, v. 48, p. 535-541, 1973.

SODRÉ, M. M., GAMA, A. R., ALMEIDA, M. F. Updated list of bat species positive for Rabies in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 75-81, 2010.

SRINIVASAN, A. Transmission of Rabies Virus from an Organ Donor to Four Transplant Recipients. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, p. 1103-1111, 2005.

STRADY, A., LANG, J., LIENARD, M., BLONDEAU, C., JAUSSAUD, R., PLOTKIN, S. A. Antibody Persistence Following Preexposure Regimens of Cell-Culture Rabies Vaccines: 10-Year Follow-Up and Proposal for a New Booster Policy. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 177, p. 1290–1295, 1998.

STRADY, C., JAUSSAUD R., BÉGUINOT, M., LIENARD, M.; STRADY, A. Predictive factors for the neutralizing antibody response following pre-exposure rabies immunization: validation of a new booster dose strategy. **Vaccine**, v. 18, p. 2661-2667, 2000.

SUDARSHAN, M.K., GIRI, M. S. A., MAHENDRA, B.J., VENKATESH, G.M., SANJAY, T.V., NARAYANA, D.H. A., RAVISH, H.S. Assessing the Safety of Post-exposure Rabies Immunization in Pregnancy. **Human Vaccines**, v.3, n.3, p. 61-63, 2007.

SWANGO, L. J. Moléstias Virais Caninas. In: **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. ETTINGER, S. J. São Paulo, Manole (Ed), cap. 69, p. 573-588, 1997.

TOOVEY, S. Preventing rabies with the Verorab[®] vaccine: 1985–2005 Twenty years of clinical experience. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 6, p. 327-348, 2007.

TORDO, N., CHARLTON, K., WANDELER, A. **Rhabdoviruses: rabies**. In: TOPLEY, W.W.C.; WILSON, G.S. **Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity**. 9ed. Londres: Arnold, p. 665-692, 1998.

TORDO, N., ROTIVEL, Y. La rage: émergences et ré-émergences. **Bulletin de l'AAEIP**, v. 46, n. 178, p. 5-13, 2004.

TRAVASSOS DA ROSA, E. S., KOTAIT, I., BARBOSA, T. F. S., CARRIERI, M. L., BRANDÃO, P. E., PINHEIRO A. S., BEGOT, A. L., WADA, M. Y., OLIVEIRA, R. C., GRISARD, E. C., FERREIRA, M., LIMA, R. J. S. L., MONTEBELLO, L., MEDEIROS, D. B. A., SOUSA, R. C. M., BENSABATH, G., CARMO, E. H., VASCONCELOS, P. F. C. Bat transmitted Human Rabies outbreaks, Brazilian Amazon. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 8, p. 1197–1202, 2006.

VERLINDE, J.D., LI-FO-SJOE, E., VEERSTEEG, J., DECKER, S.M. A local outbreak of paralytic rabies in Surinam children. **Tropical and Geographical Medicine**, v. 27, p. 137-142, 1975.

VODOPIJA, R., LAFONT, M., BAKLAIC, Z., LJUBICIC, M., SVJETLIEIC, M., VODOPIJA, I. Persistence of humoral immunity to rabies 1100 days after immunization and effect of a single booster dose of rabies vaccine. **Vaccine**, v. 15, n. 5, p. 571-574, 1997.

WADA, M. Y., ROCHA, S. M., MAIA-ELKHOURY, A. N. S. Rabies situation in Brazil, 2000 to 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 4, p. 509-518, 2011.

WARRELL, M.J., WARRELL D.A. Rabies and Other lyssavirus diseases. **The Lancet**, v. 363, p. 959-969, 2004.

WEN, Y., WANG, H., WU, H., YANG, F., TRIPP, R. A., HOGAN, R. J., FU, Z. F. Rabies Virus Expressing Dendritic Cell-Activating Molecules Enhances the Innate and Adaptive Immune Response to Vaccination **Journal of Virology**, v. 84, n. 4, p. 1634–1644. 2010.

WERTHEIM, H.F.L., NGUYEN, T.Q., NGUYEN, K.A.T., DE JONG, M.D., TAYLOR, W.R.J., LE, T.V., NGUYEN, H.H., NGUYEN, H.T. H., FARRAR, J., HORBY, P., NGUYEN, H.D. Furious rabies after an atypical exposure. **PLoS Medicine**, v. 6, n. 3, p. 264-268, 2009.

WHO. Who expert consultation on rabies. Technical report series 931; **First Report**; Geneva, 2005. Disponível em: <<http://www.who.int/rabies/931/en/index.html>> Acesso em: 15/12/2009.

WHO. Rabies vaccines: WHO position paper – Recommendations. **Vaccine**, n. 28, p. 7140-7142, 2010.

WILLOUGHBY, R.E.J., TIEVES, K.S., HOFFMAN, G.M., GHANAYEM, N.S., AMLIE-LEFOND, C.M., SCHWABE, M.J., CHUSID, M.J., RUPPRECHT, C.E. Survival after treatment of rabies with induction of coma. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 24, p. 2508-2514, 2005.

WILLOUGHBY, R.E.J. “Early death” and the contraindication of vaccine during treatment of rabies. **Vaccine**, v. 27, p. 7173–7177, 2009.

WUNNER, W. H., BRIGGS, D. J. Rabies in the 21st Century. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 4, n. 3, p. 1-2, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A : TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: **Persistência de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico após vacinação pré e pós-exposição e doses de reforço, em população de área rural exposta a agressão por morcegos hematófagos no Brasil.**

Instituições Envolvidas: Universidade Federal do Pará, Secretaria de Saúde do Estado do Pará, Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo, Instituto Pasteur de Paris, Sanofi Pasteur.

Esclarecimento da Pesquisa

A raiva é uma doença que tem evolução fatal. A doença é transmitida ao homem através de arranhadura, lambedura ou mordedura de um animal infectado. Nos anos de 2004 e 2005, o Pará registrou 36 casos de raiva humana transmitida por morcegos, dos quais 15 ocorreram no município de Augusto Correa. Para prevenir novos casos da doença, cerca de 3.500 pessoas foram vacinadas contra a raiva no município. O objetivo deste estudo é dosar o nível de anticorpos contra o vírus rábico presente no sangue, e foi aceito no comitê de ética do Hospital Universitário João de Barros Barreto. Tais anticorpos protegem o organismo da doença fatal, mas com o passar dos meses e anos, os mesmos diminuem no organismo. É por esta razão que devemos nos vacinar em caso de nova agressão por animal suspeito. Se você foi vacinado contra a raiva em 2005 ou 2006, poderá participar deste estudo. Para isso, precisaremos fazer algumas perguntas sobre dados pessoais como data de nascimento, sexo, peso, altura, antecedentes de doenças e medicamentos tomados durante e após a vacinação contra a raiva, assim como história de agressão por animais domésticos ou selvagens. Para a dosagem dos anticorpos, necessitaremos de 5 mililitros de seu sangue, o qual será colhido com material estéril e descartável, não apresentando risco para sua saúde, a não ser pequena dor local e/ou hematoma relacionados à técnica de colheita. O resultado do exame será fornecido por escrito 3 a 6 meses após a colheita do sangue, e caso você apresente uma taxa de anticorpos inferior a 0.5 UI/mL, uma nova dose de reforço da vacina será proposta. Estes procedimentos deverão ser realizados uma vez por ano, durante 5 anos (de 2007 a 2011), por isso solicitamos que somente as pessoas que não pretenderem se mudarem nos próximos 12 meses participem do estudo. Quanto ao segredo da sua participação na pesquisa e de toda informação fornecida, esta equipe de pesquisadores garantirá total sigilo (segredo). Os dados que interessam da pesquisa serão publicados em conjunto, sem identificação de qualquer pessoa. Somente os médicos deste estudo, da Sanofi Pasteur e as autoridades de saúde poderão ter acesso às informações confidenciais. Deixa-se claro que sua participação é de seu livre-arbítrio, não havendo pagamento pela mesma, podendo, em qualquer momento do estudo, recusar-se a responder quaisquer perguntas, permitir análise e divulgação dos dados contidos em seu questionário. O médico responsável pelo estudo está à sua disposição para esclarecer qualquer dúvida antes que você assine o termo de consentimento, durante e após o término do mesmo. É preciso esclarecer que caso você desista de continuar nesta pesquisa, não haverá nenhum prejuízo no seu acompanhamento médico.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre o projeto de pesquisa **“Persistência de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico após vacinação pré e pós-exposição e doses de reforço, em população de área rural exposta a agressão por morcegos hematófagos no Brasil”**, e que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo do mesmo, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame, além de fornecer informações sobre minha pessoa que constarão em uma ficha clínico-epidemiológica, as quais só poderão ser utilizadas em relatórios e publicações científicas.

Augusto Correa, / / 2007

Nome do Sujeito: _____ Assinatura: _____

Nome do Pai/Mãe/Tutor Legal: _____ Assinatura: _____

Pesquisador Responsável: Rita Catarina Medeiros Sousa Assinatura: _____

Endereço: Hospital Universitário João de Barros Barreto. Av. Mundurucus, Belém

Fones: 091. 3201.6652/3214.2012. Registro no CRM-PA: 5303

APÊNDICE B : FICHA INDIVIDUAL DE INCLUSÃO – 2007

PERSISTÊNCIA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O VIRUS RÁBICO
APÓS VACINAÇÃO PRÉ OU PÓS-EXPOSIÇÃO E DOSES DE REFORÇO, EM
POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL EXPOSTA A AGRESSÃO POR MORCEGOS
HEMATÓFAGOS NO BRASIL

Protocolo RAB33

Nome do Centro de estudo:

Número do Centro de estudo: |_|_|_|

Número do Sujeito: |_|_|_| |_|_|_|_|_|

(Continua)

RAB33		Ficha Individual
Número do sujeito		
_ _ _ _ _ _ _	inclusão	
DATA DA ENTREVISTA		
Data _ _ _ _ _ _ _ _ _ _2_ _0_ _0_ _7_	Nome do entrevistador	
dd mm aaaa	
INCLUSION CRITERIA		
	SIM	NÃO
1. Nome do sujeito consta no registro de vacinação como tendo sido vacinado contra a raiva.....	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2. Residente de Augusto Correa e sem planos de mudança de município pelo menos 1 ano após ter sido incluído no estudo.....	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3. Concorda com colheita de amostra de sangue	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4. Termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelo sujeito (se >18 anos) ou por responsável legal.....	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5. Consentimento por escrito, se sujeito com 10 – 17 anos de idade.....	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Se alguma resposta for <u>NÃO</u>, parar processo de inclusão</i>		

(continua)

DADOS DEMOGRÁFICOS			
Sexo	<input type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Feminino	Peso __ __ . __ __ __ kg
Data de nascimento	__ __ __ __		Altura __ __ __ cm
	__ __ __ __		
	dd mm aaaa		
ANTECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS RELEVANTES			
O sujeito apresentou alguma das condições clínicas abaixo desde a vacinação em 2005?			
	Sim	Não	Não sabe
1. Malária.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Tuberculose.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Hanseníase	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MEDICAÇÕES UTILIZADAS			
O sujeito tomou alguma das medicações abaixo desde a vacinação em 2005?			
	Sim	Não	Não sabe
1. Anti-Malárico.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Se Sim, especificar:</i> Cloroquina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Soro contra animal peçonhento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
RAB33		Ficha Individual	
Número do Sujeito			
__ __ __ __ __ __	Inclusão		

(continua)

HISTÓRIA DE VACINAÇÃO ANTIRRÁBICA EM 2005

Informação detalhada sobre a vacinação antirrábica administrada no sujeito em 2005.

Número de injeções	Sim	Não	Se Sim, Data
1ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa
2ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa
3ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa
4ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa
5ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa

Tipo de vacinação: Pré-exposição Exposição Re-exposição

HISTÓRIA DE RE-VACINAÇÃO ANTIRRÁBICA (BOOSTER)

O sujeito recebeu alguma vacina antirrábica adicional após a vacinação em 2005? Sim Não Não sabe

Se Sim, especificar o número de injeções	Sim	Não	Data
1ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa

(conclusão)

RAB33		Ficha Individual
Número do Sujeito		
____ ____ ____ ____ ____ ____ ____	inclusão	
Endereço do Sujeito/Pais/Responsável legal para contato:		
O Sujeito/Pais/Responsável legal tem telefone? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Se Sim, indicar número do telefone: ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____		
Melhor <u>dia</u> para contato telefônico:		
<u>Horário</u> para contato telefônico: ____ ____ h - ____ ____ h		
DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR		
Eu, <i>Declaro ter confirmado todas as informações contidas nesta ficha individual e que todos os dados estão completos e corretos.</i> Data : ____ ____ / ____ ____ / ____ ____ ____ ____ Assinatura do investigador: <div style="display: flex; justify-content: space-around; width: 100%;"> de mm asa </div>		

APÊNDICE C : FICHA DE ACOMPANHAMENTO ANUAL – 2008 e 2009

(continua)

RAB33			Ficha Individual
Número do sujeito	Iniciais do sujeito		
_____ _____	_____ <i>Nome</i> <i>Sobrenome</i>	VISITA ANUAL DE ACOMPANHAMENTO 2008	

DATA DA ENTREVISTA

Data	____ ____ ____ ____	2 0 0 8	Nome do entrevistador
	dd	mm	aaaa
		

ESTADO DE SAÚDE DO SUJEITO

<input type="checkbox"/> Vivo <input type="checkbox"/> Óbito*
Se óbito, especificar a causa: <input type="checkbox"/> Raiva <input type="checkbox"/> Outros, especificar:
<i>*Se o sujeito foi a óbito, parar o questionário e completar o questionário de término do estudo "Didos Finais".</i>

ANTECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS RELEVANTES

O sujeito apresentou alguma das condições clínicas abaixo desde a última visita em 2007?			
	Sim	Não	Não sabe
1. Malaria.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Tuberculose.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Hanseníase	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

(continua)

MEDICAÇÕES UTILIZADAS

O sujeito tomou alguma das medicações abaixo desde a última visita em 2007?

	Sim	Não	Não sabe
1. Anti-Malárico.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Se Sim, especificar:</i> Cloroquina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Soro contra animal peçonhento.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

HISTORIA DE IMUNIZAÇÃO ANTIRRÁBICAO sujeito recebeu vacina antirrábica desde a última visita em 2007? Sim Não Não sabe

Se Sim, especificar o número de injeções	Sim	Não	<i>Se Sim, Data</i>
1ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa
2ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa
3ª Injeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ dd mm aaaa

Dados obtidos por: Relato oral
 Documento escrito (ex: carteira de vacinação, registro de unidade de saúde)

(continua)

RAB33			Ficha Individual
Número do sujeito	Iniciais do sujeito		
_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _	_ _ _ _ _ _ _ _ Nome Sobrenome	VISITA ANUAL DE ACOMPANHAMENTO 2008	

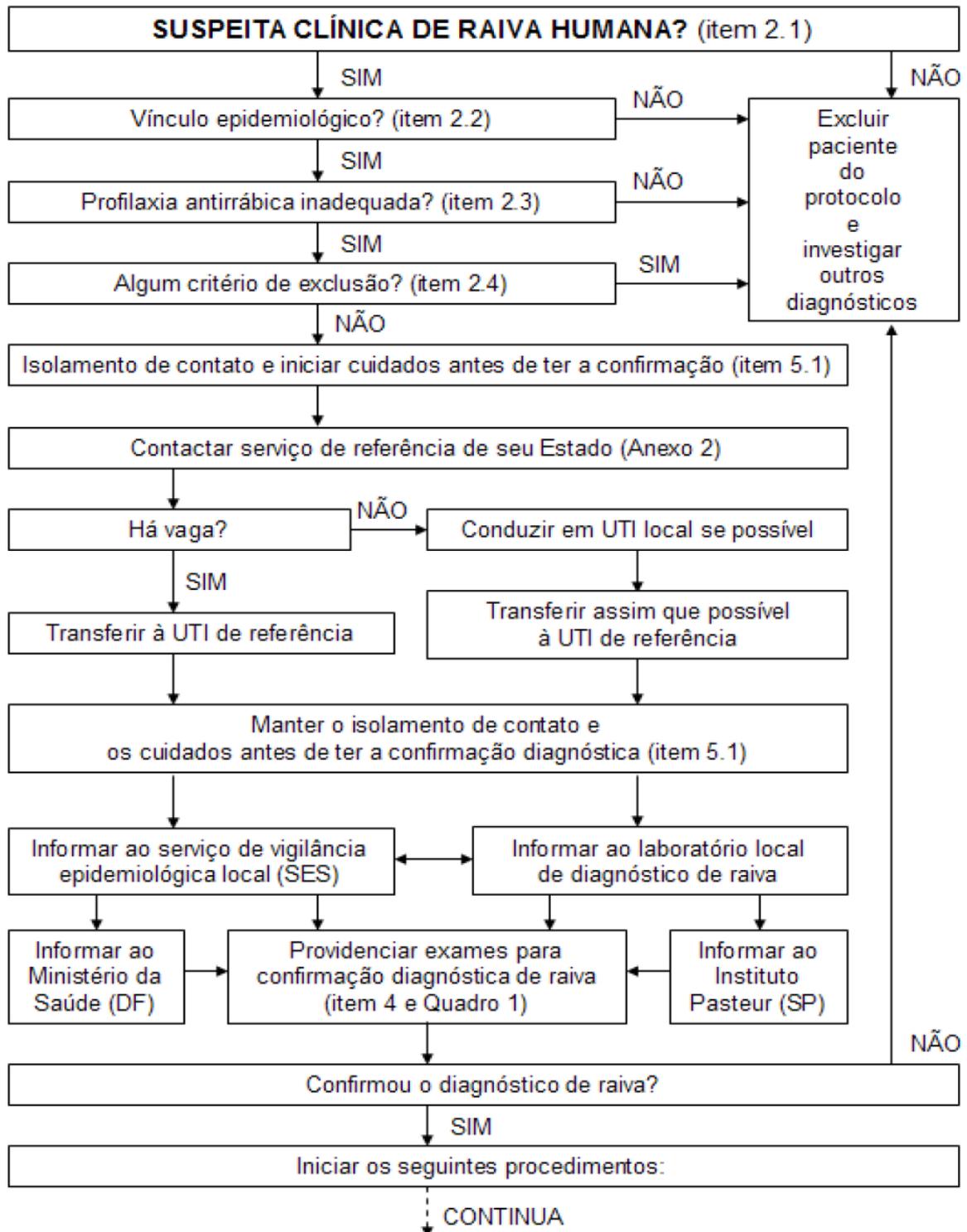
HISTORIA DE IMUNOGLOBULINA ANTIRRÁBICA

O sujeito recebeu imunoglobulina durante a vacinação em 2005?		<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Não sabe
Se Sim, especificar a via	Sim	Não	Se Sim, Data	
Intramuscular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _	_ _ _ _
			_ _ _ _	_ _ _ _
			dd	mm
			aaaa	
Infiltração local	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ _ _	_ _ _ _
			_ _ _ _	_ _ _ _
			dd	mm
			aaaa	
Localização anatômica	<input type="checkbox"/> Braço direito	<input type="checkbox"/> Braço esquerdo	<input type="checkbox"/> Perna direita	
	<input type="checkbox"/> Perna esquerda	<input type="checkbox"/>		
	Outro			
Dados obtidos por:	<input type="checkbox"/> Relato oral			
	<input type="checkbox"/> Documento escrito (ex: carteira de vacinação, registro de unidade de saúde)			

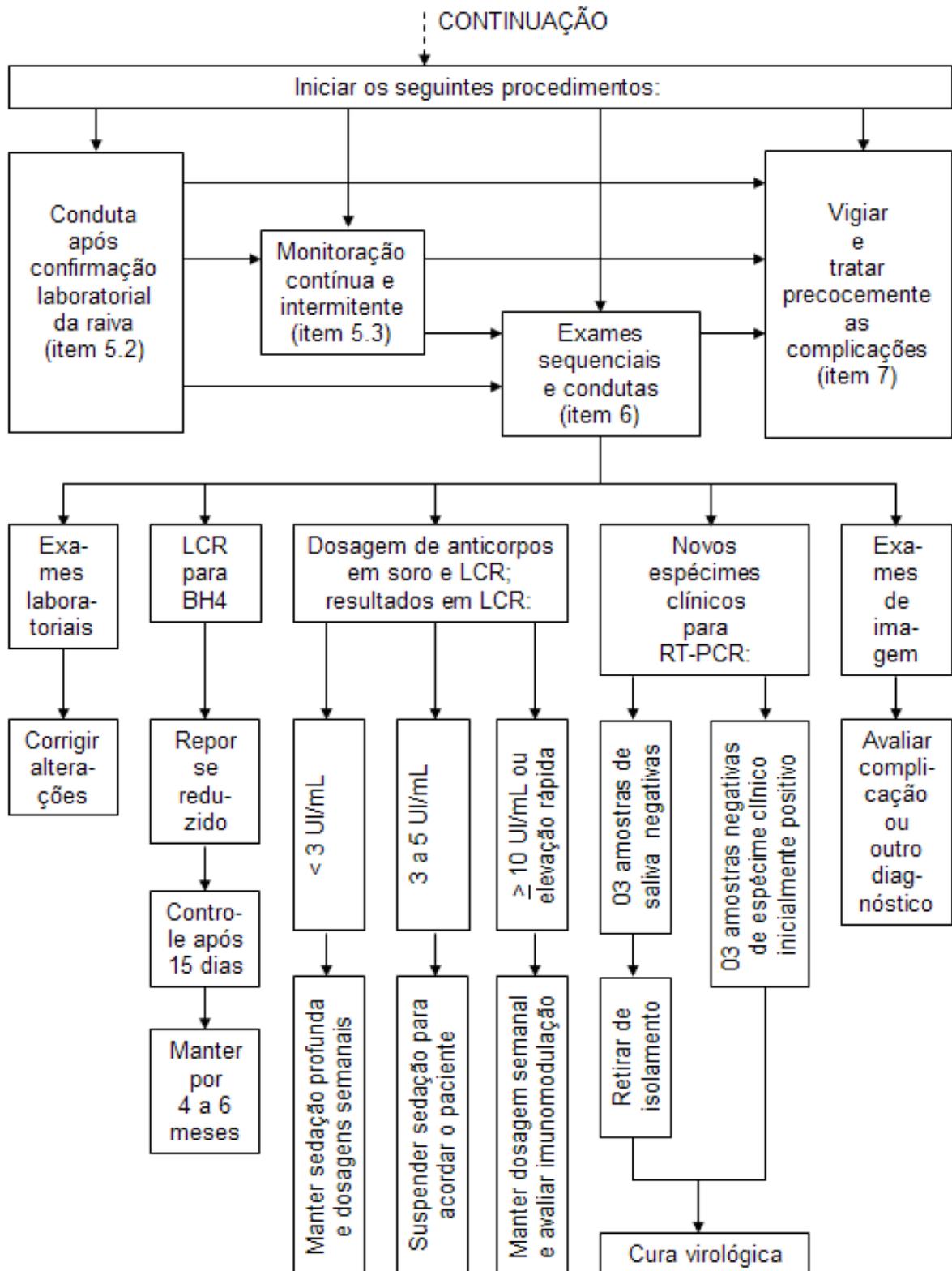
ANEXOS

ANEXO A: PROTOCOLO PARA TRATAMENTO DE RAIVA HUMANA NO BRASIL – PROTOCOLO DE RECIFE

(continua)



(conclusão)



ANEXO B: ESQUEMA PARA TRATAMENTO PROFILÁTICO ANTI-RÁBICO HUMANO COM A VACINA DE CULTIVO CELULAR.

Condições do animal agressor ¹	Cão ou gato sem suspeita de raiva no momento da agressão	Cão ou gato clinicamente suspeito de raiva no momento da agressão	Cão ou gato raivoso, desaparecido ou morto; Animais silvestres (inclusive os domiciliados) ² Animais domésticos de interesse econômico ou de produção
Tipo de exposição			
Contato indireto	Lavar com água e sabão Não tratar	Lavar com água e sabão Não tratar	Lavar com água e sabão Não tratar
Acidentes leves Ferimentos superficiais, pouco extensos, geralmente únicos, em tronco e membros (exceto mãos, polpas digitais e planta dos pés); Podem acontecer em decorrência de mordeduras ou arranhaduras causadas por unha ou dente; Lambadura de pele com lesões superficiais	Lavar com água e sabão Observar o animal durante 10 dias após a exposição Se o animal permanecer sadio no período de observação, encerrar o caso Se o animal morrer, desaparecer ou se tornar raivoso, administrar 5 doses de vacina (dias 0, 3, 7, 14 e 28)	Lavar com água e sabão. Iniciar tratamento com duas doses, uma no dia 0 e outra no dia 3 Observar o animal durante 10 dias após a exposição Se a suspeita de raiva for descartada após o 10º dia de observação, suspender o tratamento e encerrar o caso Se o animal morrer, desaparecer ou se tornar raivoso, completar o esquema até 5 doses. Aplicar uma dose entre o 7º e o 10º dia e uma dose nos dias 14 e 28	Lavar com água e sabão. Iniciar imediatamente o tratamento com 5 (cinco) doses de vacina administradas nos dias 0, 3, 7, 14 e 28
Acidentes graves Ferimentos na cabeça, face, pescoço, mão, polpa digital e/ou planta do pé; Ferimentos profundos, múltiplos ou extensos, em qualquer região do corpo; Lambadura de mucosas; Lambadura de pele onde já existe lesão grave; Ferimento profundo causado por unha de gato.	Lavar com água e sabão Observar o animal durante 10 dias após exposição Iniciar tratamento com duas doses: uma no dia 0 e outra no dia 3. Se o animal permanecer sadio no período de observação, encerrar o caso Se o animal morrer, desaparecer ou se tornar raivoso, dar continuidade ao tratamento, administrando o soro ³ e completando o esquema até 5 (cinco) doses. Aplicar uma dose entre o 7º e o 10º dia e uma dose nos dias 14 e 28	Lavar com água e sabão. Iniciar o tratamento com soro ³ e 5 doses de vacina nos dias 0, 3, 7, 14 e 28 Observar o animal durante 10 dias após a exposição Se a suspeita de raiva for descartada após o 10º dia de observação, suspender o tratamento e encerrar o caso	Lavar com água e sabão Iniciar imediatamente o tratamento com soro ³ e 5 doses de vacina nos dias 0, 3, 7, 14 e 28

1. É preciso sempre avaliar os hábitos e cuidados recebidos pelo cão e gato. Podem ser dispensadas do tratamento as pessoas agredidas por cão ou gato que, com certeza, não têm risco de contrair a infecção rábica. Por exemplo, animais que vivem dentro do domicílio (exclusivamente), não têm contato com outros animais desconhecidos e que somente saem às ruas acompanhados de seus donos, que não circulem em área com a presença de morcegos hematófagos.

Em caso de dúvida, iniciar o esquema de profilaxia indicado. Se o animal for procedente de área de raiva controlada, não é necessário iniciar o tratamento. Manter o animal sob observação e só indicar o tratamento (soro + vacina) se o animal morrer, desaparecer ou se tornar raivoso.

2. Nas agressões por morcegos, deve-se indicar a soro-vacinação independente da gravidade da lesão, ou indicar conduta de reexposição.

3. Aplicação do soro perifocal na(s) porta(s) de entrada. Quando não for possível infiltrar toda a dose, a quantidade restante deve ser aplicada pela via intramuscular, podendo ser utilizada a região glútea. **Sempre aplicar em local anatómico diferente do que aplicou a vacina.**

(BRASIL, 2005)

ANEXO C: CÓPIA DO PARECER DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER Nº 402/2007

Registro CONEP: 13882 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Registro no CEP: 0438/2007

Processo nº 25000.048631/2007-15

Projeto de Pesquisa: "*Persistência de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico após vacinação pré e pós-exposição e doses de reforço, em população de área rural exposta a agressão por morcegos hematófagos no Brasil*".

Pesquisador Responsável: Dr^a. Rita Catarina Medeiros Sousa

Instituição: Hospital Universitário João de Barros Barreto / UFPA

CEP de origem: HUJBB / UFPA

Área Temática Especial: Cooperação estrangeira

Patrocinador: Sanofi Pasteur S.A.

Sumário geral do protocolo:

O objetivo geral deste estudo é verificar a persistência dos anticorpos neutralizantes antivírus rábico em indivíduos previamente vacinados contra o vírus rábico em situações de pré e pós-exposição, durante cinco anos, por meio de testes sorológicos em 500 sujeitos de pesquisa. Em 2005, mais de 3.500 habitantes do município de Augusto Correa receberam vacinação anti-rábica (Verolab) em pós como em pré-exposição. O estudo será realizado na unidade básica de saúde de Arai, uma das nove unidades de saúde de Augusto Correa (Pará). Alguns receberam doses de reforço, devido a possível re-exposição ao vírus rábico após nova agressão por morcegos hematófagos. Os resultados obtidos a partir deste estudo fornecerão informações importantes sobre o impacto da vacinação pré e pós-exposição em ambiente rural, para melhor conduta diante de novos casos de raiva causados por morcegos hematófagos. Além disso, este estudo deve conter informações sobre o impacto das doses de reforço nos títulos de anticorpos neutralizantes anti-rábicos. Cada indivíduo será acompanhado uma vez por ano, durante cinco anos. Após visita, os indivíduos que apresentarem títulos de anticorpos menor ou igual a 0.5 IU/mL receberão doses de reforço da vacina anti-rábica, de 3 a 6 meses depois.

A metodologia está adequada aos objetivos. Foi informado pelo pesquisador, que os riscos estão relacionados a técnica de coleta de sangue (dor e/ou hematoma no local, da punção venosa). Os benefícios individuais estão relacionados ao conhecimento do estado imunológico de cada um diante da vacinação e reforços administrados, e para aqueles em que os títulos de anticorpos serão menor ou igual a 0.5 IU/mL será oferecido novo esquema de reforço. Como benefício coletivo, os resultados deste estudo, permitirão otimizar os programas de vacinação anti-rábica na região.

Local de realização:

O projeto não é multicêntrico. Será realizado na Universidade Federal do Pará e contará com a participação de pesquisadores da Secretaria Estadual de Saúde do Pará (SESPA), do Hospital Universitário João de Barros Barreto, do Centro de Controle de Zoonoses do Estado de SP e do Instituto Pasteur de Paris.

Cont. Parecer CONEP 402/07

Apresentação do protocolo:

O currículo do pesquisador responsável está de acordo com a proposta da pesquisa. O orçamento apresentado está adequado. Foi apresentada a brochura do investigador. O cronograma da pesquisa está adequado.

Há tratamento adequado dos dados e materiais biológicos. Serão coletados 5 ml de sangue venoso de cada participante do estudo para dosagem de anticorpos anti-rábicos por meio de testes RFFIT e Platelia® Elisa. Cada participante será identificado por um número que será colocado na ficha individual e no tubo contendo cada amostra de sangue.

Haverá envio de material biológico para o exterior. Após coleta das amostras, estas serão encaminhadas aos laboratórios de São Paulo (Centro de Controle de Zoonoses) e de Paris (Instituto Pasteur) para realização dos testes sorológicos. Duas alíquotas de cada paciente serão enviadas ao laboratório de análises clínicas do centro anti-rábico do Instituto Pasteur de Paris. Outra alíquota será enviada ao Centro de Controle de Zoonoses da cidade de São Paulo e a quarta alíquota será mantida como reserva em congelador no Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará. O pesquisador informa que não haverá formação de banco de materiais biológicos, sendo que todas as amostras serão destruídas após análise.

Foram apresentadas as autorizações de pesquisa do Centro de Zoonoses do município de São Paulo e do setor de endemias da Secretaria de Saúde do Estado do Pará, e Certificado de Seguro no nome da Sanofi-Aventis farmacêutica LTDA, que cobrirá reclamações por danos decorrentes da responsabilidade civil do segurado. Foi apresentada a autorização do comitê do Instituto Pasteur de Paris.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) é conciso e objetivo, está formulado na forma de convite à participação no estudo, a linguagem é adequada ao nível sócio-cultural dos participantes, permitindo a decisão consciente do sujeito de pesquisa, consta descrição suficiente dos procedimentos, identificação dos riscos e desconfortos esperados, e permite a saída do sujeito de pesquisa da experimentação, sem prejuízo de seus cuidados.

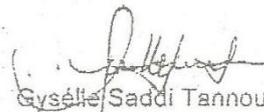
Recomendação:

1. Na folha de rosto falta preenchimento dos dados do patrocinador e da área temática especial.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/00, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento da questão acima, antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Brasília, 17 de maio de 2007.



Gyselle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS