

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

PRINCIPAIS EXAMES DIAGNÓSTICOS E MEDIDAS PREVENTIVAS PARA O CONTROLE DA RAIVA: REVISÃO DE LITERATURA

Camila Ribeiro, Tarcísio Liberatto, Bianca Arnoni.

Universidade do Vale do Paraíba. Medicina Veterinária. Avenida Shishima Hifumi, 2911.
Vet.camilaribeiro@gmail.com, tarcisio@univap.br, bianca.arnone@univap.br.

Resumo

A raiva é uma enfermidade de caráter zoonótico há muito conhecida pelo homem, acometendo em sua maioria mamíferos de sangue quente como canídeos e bovídeos, por exemplo. Como metodologia para a realização deste trabalho foram consultados e analisados artigos datados entre 1968 e 2020, manuais técnicos de referência acerca da profilaxia da raiva e consulta de programas federais para controle do vírus. Tais levantamentos levam à discussão sobre a importância e necessidade do processo de conscientização para o controle da doença por meio da vacina antirrábica e a necessidade de ampliação de exames diagnósticos verdadeiramente sensíveis e eficazes para reconhecimento imediato do vírus no animal infectado de modo a prevenir que os demais animais do rebanho também sejam acometidos. O presente trabalho tem o objetivo de destacar a IFD como técnica padrão-ouro de diagnóstico laboratorial da raiva evidenciando a importância e necessidade de medidas preventivas com programas de conscientização para controle dessa enfermidade.

Palavras-chave: raiva. diagnóstico laboratorial. imunofluorescência direta. medidas preventivas.

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária.

Introdução

A raiva é uma enfermidade infectocontagiosa conhecida pelo homem há milhares de anos, sendo importante fonte de estudo para a comunidade científica e em âmbito de saúde pública pelo seu fator letal, uma vez que, após aparecidos os sintomas, o curso clínico da doença é sempre fatal (Schneider & Burgoa, 1994). Trata-se de um vírus pertencente à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae e gênero Lyssavirus (Schoch et al, 2020), que acomete sobretudo animais de sangue quente (Acha & Szyfres, 2001).

Se tratando da área urbana, o cão é a espécie mais acometida pelo vírus, tendo papel importante na manutenção epidemiológica do vírus. Sobretudo, a doença em felinos tem se tornado muito frequente, apresentando crescimento concomitante ao aumento dos casos da raiva em canídeos (Pasteur, 1999).

A infecção viral ocorre por via percutânea, sendo o principal hospedeiro natural (Batista et al, 2007) e transmissor o morcego hematófago da espécie *Desmodus rotundus*, a espécie mais comum e abundante de morcego hematófago, encontrado principalmente em áreas com presença de animais de criação (McFarland & Wimsatt, 1969), sendo este amplamente distribuído pelo Brasil (dos Reis et al, 2007).

A doença possui período de incubação variável, dependendo, sobretudo, do local da mordedura, uma vez que quanto mais próximo ao sistema nervoso central, mais rápida a replicação viral; e da susceptibilidade do animal acometido (Batista et al, 2007). O prognóstico é 100% fatal para todas as espécies acometidas e apresenta sintomatologia clássica, sendo a principal causa da morte, as contrações tônicoclônicas das musculaturas envolvidas na respiração (Pasteur, 1999).

A técnica laboratorial padrão-ouro para diagnóstico da raiva em herbívoros é a técnica de imunofluorescência direta (IFD) devido sua agilidade, sensibilidade e precisão (Zimmer et al, 1990). Atualmente, sabe-se que a vacinação criada por Pasteur há mais de um século (Schneider & Burgoa, 1994) é a única forma de prevenção ao vírus em todas as espécies suscetíveis e o principal método de controle epidemiológico.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

O Programa Nacional de Profilaxia da Raiva (PNPR) foi um programa criado pelos Ministérios da Agricultura e da Saúde em associação com a Central de Medicamentos e a OMS (Organização Mundial da Saúde) que visa o controle dessa zoonose no país, bem como o manejo imediato ao humano acometido ou que teve contato com algum animal suspeito (Schneider et al, 1996).

Diante do exposto, este trabalho destina-se a destacar a imunofluorescência direta como técnica padrão-ouro para o diagnóstico da raiva, apresentar uma revisão comparativa entre outros testes laboratoriais e evidenciar a importância das medidas preventivas existentes para controle dessa enfermidade.

Metodologia

Para a realização deste trabalho, foi realizado um levantamento de dados bibliográficos sobre a técnica diagnóstica de eleição do vírus da raiva e as medidas preventivas existentes hoje no Brasil nas bases PubMed/Medline, Science Direct, Google Acadêmico e banco de dados e programas do governo federal, compilando informações e conhecimentos advindos de manuais técnicos federais e publicações científicas.

Os unitermos utilizados para tal levantamento foram, em português e inglês: “raiva”, “rabies”, “diagnóstico da raiva”, “diagnosis of rabies”, “imunofluorescência direta”, “direct immunofluorescence”, “controle da raiva” e “rabies control”, publicados entre os anos de 1968 e 2020.

As questões levantadas para a realização deste trabalho foram, para além da etiologia da raiva propriamente dita, a técnica diagnóstica de eleição e as medidas preventivas existentes hoje no Brasil. A metodologia deve estar bem descrita e detalhada, permitindo a replicação do estudo.

Resultados

As manifestações clínicas da raiva são conhecidas pelo homem há milhares de anos, sendo a primeira descrição da doença datada de 500 anos a.c. por Demócrito, quando também Aristóteles e Luciano falaram pela primeira vez sobre a teoria de que a enfermidade pudesse ser adquirida a partir da mordedura pelo animal infectado. A sintomatologia clínica da doença é aguda e 100% das vezes fatal. O tratamento da raiva é sintomatológico e sobretudo preventivo, isto é, a vacinação é a melhor forma de isolamento da doença, visto que não há cura (Schneider & Burgoa, 1994).

Trata-se de um vírus RNA envelopado pertencente à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae e gênero Lyssavirus (Schoch et al, 2020) que acomete sobretudo animais de sangue quente. Quando se trata de áreas urbanas, tem o cão como animal mais susceptível à infecção, seguido dos felinos, cujo crescimento do número de casos é concomitante ao aumento do número de casos em cães pelo contato próximo. Estes, na maioria das vezes, são hospedeiros finais do vírus, visto que a doença leva o animal a óbito (Pasteur, 1999).

O período de incubação é variável, dependendo da proximidade do local da mordedura em relação ao sistema nervoso central, da concentração do vírus e da suscetibilidade do animal acometido (Batista et al, 2007). A sintomatologia da doença e os principais sinais clínicos apresentados, ao seguir seu ciclo usual e característico, configuram a causa mortis, causada majoritariamente pelas contrações tônico-clônicas das musculaturas relacionadas à respiração, que geralmente ocorre 7 dias após o início dos sintomas (Pasteur, 1999).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2012) apontou os índices de crescimento e retardo das casuísticas de raiva entre 2006 e 2012 no Estado de São Paulo, evidenciando a importância e necessidade da vigilância e controle da doença, bem como um estudo mais embasado sobre as principais causas do aumento dos casos.

A técnica laboratorial padrão-ouro para diagnóstico da raiva é a técnica de imunofluorescência direta (IFD) devido a sua agilidade, sensibilidade e precisão (Zimmer et al, 1990). Trata-se de um teste diagnóstico factível realizado através do reagente essencial, o conjugado antirrábico, que é um anticorpo produzido especificamente contra o vírus da raiva, ligado à molécula de fluorocromo, molécula fluorescente que emite luz e dá especificidade à reação. Essa reação, portanto, é observada em microscópio de fluorescência, onde serão observadas concentrações de fluorescência esverdeada em casos positivos de raiva na amostra coletada (Aoki et al, 2010).

Em casos suspeitos, todo animal deve ter seu sistema nervoso central (hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e tronco encefálico) coletado através de biópsia e enviado para análise em laboratório. No

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

caso de bovinos, o material quando negativo para raiva após análise deve ser enviado para outra análise em laboratório afim de realizar diagnósticos diferenciais de encefalopatia espongiforme em bovinos (EEB). Em equinos, por sua vez, em casos negativos de raiva, a amostra é enviada para diagnósticos diferenciais de encefalomielites equinas (Ministério da Saúde, 2008).

Outros testes diagnósticos também são aplicados no dia a dia da rotina laboratorial, como o teste de peroxidase anti-peroxidase (PAP), teste de inoculação em camundongos (MIT) e a técnica de cultura de células (CCT). O PAP é o segundo teste mais utilizado na rotina diagnóstica do vírus da raiva, permitindo, portanto, um diagnóstico altamente confiável, contudo as amostras devem ser exclusivamente fixadas em formol e embebidas em parafina (Zimmer et al, 1990).

O Programa Nacional de Profilaxia da Raiva (PNPR) é um programa criado em 1973 pelos Ministérios da Agricultura e da Saúde em associação com a Central de Medicamentos e a OMS (Organização Mundial da Saúde) (Schneider et al, 1996) que tem por objetivo controlar o número de casos de raiva no país. Visando sua erradicação em território nacional, promove e estimula a vacinação antirrábica e o controle dos animais errantes em áreas endêmicas (Wada et al, 2011).

Discussão

De acordo com Schneider e Burgoa (1994), a raiva é uma enfermidade infectocontagiosa e suas manifestações clínicas são conhecidas pelo homem há milhares de anos, sendo importante fonte de estudo para a comunidade científica e em âmbito de saúde pública pelo seu fator letal, uma vez que, após aparecidos os sintomas, o curso clínico da doença é sempre fatal.

Trata-se de um vírus envelopado pertencente à ordem Mononegavirales (do grego: mono, único; + nega, relativo ao RNA anti-sentido + do latim: virales: vírus), família Rhabdoviridae (do grego: rhabdos, bastão) e gênero Lyssavirus (do grego: lyssa, raiva) (Schoch et al, 2020).

Segundo o Manual de Controle da Raiva dos Herbívoros do Instituto Pasteur (1999), a doença possui período de incubação de 25 a 90 dias, ou seja, o intervalo entre a data do primeiro contato com a doença e os aparecimentos da sintomatologia, sendo os sinais clínicos mais comuns o isolamento do animal que se afasta do rebanho devido a hiporexia apresentada, além de certo grau de apatia, tenesmo, priapismo, hiperexcitabilidade e acalasia. Dias após o aparecimento dos sintomas, as contrações tônico-clônicas da musculatura (característica clássica da doença) e incoordenações começam a aparecer. Logo após, o andar cambaleante e o andar dificultado faz com que os animais doentes permaneçam em decúbito e eliminando uma salivação espumosa, dada pela dificuldade de deglutição por consequência das contrações tônico-clônicas das musculaturas do pescoço. Segue-se a paralisia da musculatura relacionada à respiração e, então, a morte, que vem em até 7 dias do aparecimento dos primeiros sintomas.

O vírus se comporta de maneira diversificada de acordo com a suscetibilidade do mamífero infectado, seu grau de imunidade e local de mordedura. Sendo assim, o material coletado para exame diagnóstico em laboratório deve ser criterioso. No caso de mamíferos herbívoros, o material coletado deve conter o sistema nervoso central por inteiro ou parte dele. No caso de cães e gatos, o encéfalo inteiro pode ser levado para avaliação laboratorial. Exames diagnósticos diferenciais devem ser realizados no caso de resultados negativos para raiva, sendo diferencial da cinomose para cães e carnívoros silvestres, e diferencial de encefalopatia espongiforme dos bovinos (EEB) (Ministério da Saúde, 2008).

Por recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), a principal técnica laboratorial de diagnóstico definitivo para o vírus da raiva é o teste de imunofluorescência direta (IFD) devido sua alta sensibilidade e especificidade (Zimmer et al, 1990).

O teste de IFD consiste na pesquisa de agentes rábicos no fragmento recolhido do SNC do animal infectado, onde o vírus rábico é detectado utilizando um conjugado contendo anticorpos marcados por isotiocianato de fluoresceína (Meslin et al, 1996).

A técnica de IFD é tida até hoje como padrão-ouro para diagnóstico laboratorial definitivo do vírus da raiva em herbívoros, pois é capaz de atingir níveis de acurácia iguais ou superiores a 100% nas amostras infectadas (Rupprecht et al, 2018). O teste de inoculação em camundongos (IC) a partir do isolamento viral (IVC) também é amplamente utilizado para diagnóstico da raiva em herbívoros devido a seu alto nível de precisão. Contudo, é um teste laboratorial que demanda mais tempo para obtenção de resultados, cerca de 25 dias. Por isso, a IC é um teste laboratorial de diagnóstico usado em conjunto com o teste de IFD para fins de confirmação diagnóstica (Santos et al, 2006).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Estudos demonstram que amostras de SNC para diagnóstico da raiva através da IFD apresentam acurácia de 76,6% em relação a IVC, sendo fragmentos da medula e tronco encefálico as seções do SNC mais recomendadas para análise diagnóstica (Peixoto et al, 2000). Entretanto, é necessário resguardo com os tecidos coletados para amostra a fim de evitar resultados falsos-negativos, sendo, portanto, necessário coletar o mais rápido possível tecidos post-mortem do animal acometido para evitar autólise, problema que ocorre mais comumente em países tropicais como o Brasil (Ministério da Saúde, 2008).

Em comparação com os testes laboratoriais anteriormente citados, o teste laboratorial de transcrição reversa e reação em cadeia de polimerase (RT-PCR) vem como alternativa em casos de amostras sujeitas à degradação que compromete a acurácia do resultado. O teste de RT-PCR é capaz de identificar o vírus da raiva em amostras degradadas pelo calor em certo grau (Crepin et al, 1998) através da tipificação molecular dos genes encontrados na amostra de vírus rábico, e da amplificação e isolamento do segmento do material genético do animal contaminado. Entretanto, tal técnica não é usualmente utilizada na rotina devido ao alto risco de contaminação durante a necropsia ou preparação da amostra, resultando em possíveis falsos-negativos (WHO, 1994).

O teste de imuno-histoquímica (IHQ) é descrito como um teste alternativo à IFD devido ao seu igual ou maior grau de sensibilidade. Diferente do teste de IFD, a IHQ utiliza tecidos fixados, ou seja, formolizados, para obtenção do resultado diagnóstico que busca o antígeno no tecido ou célula através de inoculações de anticorpos monoclonais e policlonais, sendo o primeiro criado em laboratório a partir de uma célula mãe e o segundo sendo produzido a partir do resultado da resposta imune a determinado antígeno. Verificou-se, portanto, que a IHQ é uma técnica mais rápida, barata e menos trabalhosa que a IFD e IVC. Por este motivo, o teste de IHQ não é amplamente utilizado para diagnóstico de raiva em herbívoros a campo (RamosVara et al, 1999).

Em 1973 foi estruturado no país o Programa Nacional de Profilaxia da Raiva (PNCR) em associação dos ministérios da Agricultura e da Saúde, Central de Medicamentos e a Organização Mundial da Saúde (OMS), de modo a implementar no Brasil uma metodologia segura para a erradicação do vírus da raiva através de um diagnóstico rápido dos animais e humanos acometidos e controle imunobiológico da zoonose (Schneider et al, 1996).

No ano de 1966 iniciou-se no Brasil um programa de controle do morcego hematófago conduzido pela Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA) as Secretarias de Agricultura e Abastecimento (SAA), o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH). Suas diretrizes contam com campanhas de vacinação obrigatórias e semestrais das espécies susceptíveis em regiões de epizootias, controle populacional do vetor, o morcego hematófago, aumento da vigilância e atendimento imediato aos casos suspeitos de doenças nervosas (MAPA, 2009).

Em análise epidemiológica da situação dos casos de raiva no país realizada em 2013 pelo programa, notou-se que, no estado de São Paulo, entre os períodos de 2006 a 2012, houve uma variação no número de casos de raiva de até 400%. Esses números são justificados pela oscilação dos exames realizados para a vigilância do vírus da raiva, evidenciando-se a necessidade de um estudo mais embasado sobre as principais causas do aumento desses casos. Estima-se que a principal causa é o aumento da população de bovinos de maneira desproporcional à estratégia utilizada de vigilância e controle da doença (MAPA, 2013).

Conclusão

A raiva é uma doença de importante interesse em âmbito de saúde por se tratar de uma das enfermidades infectocontagiosas que mais afetam economicamente o agronegócio, gerando gastos tanto com mão-de-obra para o controle da doença no rebanho quanto com o óbito de fato dos animais acometidos. Sendo assim, a forma mais eficaz de prevenção é a vacinação.

O conhecimento sobre a raiva dos herbívoros, apesar de ser vasto, ainda é deficiente quanto ao sistema de informação e coleta de dados, de modo que a vigilância e controle da doença seja dificultado e o tamanho real do problema seja desconhecido.

A técnica laboratorial padrão-ouro para diagnóstico definitivo do vírus da raiva é a técnica de imunofluorescência direta (IFD) pelo seu alto nível de precisão e prontidão. Além da IFD, outras técnicas vêm sendo utilizadas a fim de estudo comparativo para diagnóstico da raiva em herbívoros como os testes de Peroxidase AntiPeroxidase, Inoculação Viral em Camundongos (IVC) e Imuno-histoquímico (IHQ).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

O diagnóstico correto, junto às medidas preventivas ideais para controle do vírus da raiva nas regiões mais suscetíveis, como vacinação do rebanho, controle do vetor e conscientização da população para a notificação obrigatória das casuísticas, faz com que haja uma queda importante no número de casos no Brasil, prevenindo surtos, prejuízos econômicos e maiores problemas de ordem de saúde pública.

Referências

- ACHA, P. N., & SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. **Pan American Health Org.** v. 1, 2001. Disponível em: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/Acha-Zoonosis-Spa.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2023.
- AOKI, V., SOUSA Jr, J. X., FUKUMORI, L. M., PÉRIGO, A. M., FREITAS, E. L., & OLIVEIRA, Z. N. (2010). Imunofluorescência direta e indireta. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 85, 490-500, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/ijabd/a/MTFwJfDtGwdGSpRgiWG4wty/?lang=pt>. Acesso em: 25 abr. 2023.
- BATISTA, H. B. D. C. R., FRANCO, A. C., & ROEHE, P. M. Raiva: uma breve revisão. **Acta Scientiae Veterinariae**. 35(2), 125-144, 2007. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/2890/289021845001.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2023.
- COVAS, M., DA SILVA GUEDES, J., & SEIXAS, J. C. Governador do Estado de São Paulo. **Diário Oficial**. v. 110, 2000. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_pasteur03.pdf. Acesso em: 26 abr. 2023.
- CREPIN, P., AUDRY, L., ROTIVEL, Y., GACON, A., CAROFF, C., & BOURHY, H. Intravital diagnosis of human rabies by PCR using saliva and cerebrospinal fluid. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 36, 1117-1121, 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC104702/pdf/jm001117.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2023.
- DOS REIS, N. R., PERACCHI, A. L., PEDRO, W. A., & DE LIMA, I. P. (2007). Morcegos do Brasil. **Universidade Estadual de Londrina**. 2007. Disponível em: http://www.uel.br/pos/biologicas/pages/arquivos/pdf/Morcegos_do_Brasil.pdf. Acesso em: 27 abr. 2023.
- MAPA. Controle da Raiva dos Herbívoros: **manual técnico**. 2009. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/MANUAL_RAIVAHARBIVOROS2009.pdf. Acesso em: 27 abr. 2023.
- MAPA. Análise de Indicadores Epidemiológicos da Raiva dos Herbívoros no Brasil, período 2006/2012. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2013. Disponível em: <http://www.idaf.es.gov.br/Download/Raiva%20herb%20indicadores%202006%20a%202012-1.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2023.
- MCFARLAND, W. N., & WIMSATT, W. A. Renal function and its relation to the ecology of the vampire bat, *Desmodus rotundus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 28, 985-1006, 1969. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0010406X6990543X>. Acesso em: 29 abr. 2023.
- MESLIN, F. X., KAPLAN, M. M., KOPROWSKI, H., & WORLD HEALTH ORGANIZATION. Laboratory techniques in rabies. **World Health Organization**. 1996. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38286>. Acesso em: 29 abr. 2023.
- PEIXOTO, Z. M., CUNHA, E. M. S., SACRAMENTO, D. R., SOUZA, M. C. A. M., SILVA, L. H., GERMANO, P. L., & KOTAIT, I. Rabies laboratory diagnosis: peculiar features of samples from equine

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

origin. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 31, 72-75, 2000. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/26614/S1517-83822000000100017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 29 abr. 2023

RAMOS-VARA, J. A., SEGALÉS, J., DURAN, C. O., CAMPBELL, K., & DOMINGO, M. Diagnosing infectious porcine diseases using immunohistochemistry. **Swine Health Prod.** v. 7, 85-91, 1999. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/239602979_Diagnosing_infectious_porcine_diseases_using_immunohistochemistry. Acesso em: 29 abr. 2023

RUPPRECHT, C. E., FOOKS, A. R., ABELA-RIDDER, B., & WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory techniques in rabies**. v. 1. 2018. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/310836>. Acesso em: 29 abr. 2023

SCHNEIDER, M. C., & SANTOS-BURGOA, C. Tratamiento contra la rabia humana: un poco de su historia. *Revista de Saúde Pública*. v. 28, 454-463, 1994. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsp/a/fSLXnr7HNzfYQgHXQsmnYYv/?format=pdf&lang=es>. Acesso em: 29 abr. 2023

SCHNEIDER, M. C., ALMEIDA, G. A. D., SOUZA, L. M., MORARES, N. B. D., & DIAZ, R. C. Controle da raiva no Brasil de 1980 a 1990. **Revista de Saúde Pública**. v. 30, 196-203, 1996. <https://www.scielo.br/j/rsp/a/J77pSwXPjgghfDyNKvXqR7f/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 29 abr. 2023.

SCHOCH, C. L., CIUFO, S., DOMRACHEV, M., HOTTON, C. L., KANNAN, S., KHOVANSKAYA, R., ... & KARSCH-MIZRACHI, I. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. **NCBI Database**. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=11292&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmod=e1&unlock>. Acesso em: 29 abr. 2023.

WADA, M. Y., ROCHA, S. M., & MAIA-ELKHOURY, A. N. S. Situação da raiva no Brasil, 2000 a 2009. **Epidemiologia e serviços de saúde**. v. 20. 509-518. 2011. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/ess/v20n4/v20n4a10.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO workshop on genetic and antigenic molecular epidemiology of Lyssaviruses. In: **WHO workshop on genetic and antigenic molecular epidemiology of lyssaviruses**. 1994. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/59508/WHO_Rab.Res_94.46.pdf. Acesso em: 29 abr. 2023.

ZIMMER, K., WIEGAND, D., MANZ, D., FROST, J. W., REINACHER, M., & FRESE, K. Evaluation of five different methods for routine diagnosis of rabies. **Journal of Veterinary Medicine**. v. 37, 392-400, 1990. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2204250/>. Acesso em: 29 abr. 2023.