

VACINAÇÃO ANTI-RÁBICA EM BOVINOS: COMPARAÇÃO DE CINCO ESQUEMAS VACINAIS

A. Albas¹, P.E. Pardo², H. Bremer Neto², N.M.F. Gallina³, R.M. Mourão Fuches³, A. Sartori⁴

¹Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Sorocabana, CP 298, CEP 19100-000, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: avealbas@yahoo.com.br

RESUMO

A profilaxia antirrábica em bovinos no Brasil é baseada no uso de preparações vacinais de vírus inativado. O Programa Brasileiro de Controle da Raiva Bovina indica o uso de uma dose destas vacinas (1 mL) seguida de um reforço. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar os níveis de anticorpos induzidos por 5 esquemas alternativos de vacinação antirrábica em bovinos. Para isto, foram instituídos cinco grupos experimentais, denominados A, B, C, D e E, contendo 9 animais cada grupo. Os bovinos receberam, inicialmente, uma dose da vacina (dia 0). As doses de reforço foram aplicadas de acordo com o seguinte protocolo: grupo B (uma dose no dia 30); grupo C (uma dose no dia 180); os grupos D e E receberam duas doses de reforço, nos dias 30 e 60 e 30 e 180, respectivamente; o grupo A não recebeu dose de reforço. Amostras de sangue para obtenção de soro foram colhidas de todos os animais nos dias 0 (controle), 30, 60, 90, 180, 210 e 360 após o início da vacinação. Para aferir os níveis de anticorpos antirrábicos foi utilizado o Teste Rápido de Inibição de Focos Fluorescentes (RFFIT) e foram consideradas positivas as amostras com títulos $\geq 0,5$ UI/mL (Unidades Internacionais/mL). O esquema de vacinação adotado no grupo E foi o mais eficiente, determinando níveis mais elevados de anticorpos e persistência dos mesmos por tempo mais prolongado e os resultados obtidos ilustram a necessidade de duas doses de reforço para melhor proteção de bovinos. Em função dos resultados observados, os autores sugerem que a vacinação contra a raiva nestes animais seja realizada com 3 doses, sendo os reforços administrados nos dias 30 e 180 após a primeira dose.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, raiva, resposta imune, vacinação.

ABSTRACT

RABIES VACCINATION IN CATTLE: COMPARISON BETWEEN FIVE VACCINAL SCHEDULES. The Brazilian Program for Rabies Control indicates the use of 2 doses of a vaccine with inactivated virus. This study was conducted to determine the best schedule for cattle vaccination. To evaluate this, 45 bovines were organized in 5 groups (9 animals each), identified as A, B, C, D and E. Group A received only the dose at day 0; groups B and C received one booster at days 30 and 180, respectively; groups D and E received two boosters, delivered at days 30 and 60 and 30 and 180, respectively. Blood samples were withdrawn at days 0 (negative control), 30, 60, 90, 180, 210 and 360 after the beginning of vaccination. Specific antibody levels were determined in sera samples by the rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT). Samples showing titers ≥ 0.5 IU/mL were considered positive. Group E, whose protocol included two boosters, was the most efficient because it induced high and persistent specific antibody levels. The results reinforce the need of booster application in rabies vaccination to keep the prophylactic efficacy of inactivated vaccines. In view of these results the authors suggest the use of 3 doses of a vaccine with inactivated virus: one priming dose followed by two boosters delivered at days 30 and 180 after the initial dose.

KEY WORDS: Cattle, rabies, immune response, vaccination.

²Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.

³Instituto Butantan, Divisão de Desenvolvimento Tecnológico e Produção, Serviço de Virologia, Seção de Raiva, SP, Brasil.

⁴Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

A raiva em bovinos tem sido um dos principais problemas dos países da América Latina, especialmente, nas regiões onde está presente o morcego hematófago (TADEI *et al.*, 1991). Segundo informe da Organização Panamericana de Saúde, no ano de 2001 foram notificados 2.470 casos de raiva em bovinos, sendo que destes, 2.322 (94%) ocorreram na América Latina; 102 (4,1%) na América do Norte e 46 (1,9%) no Caribe. Em outras espécies domésticas foram notificados 369 casos predominantemente em eqüinos (84,8%) (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 2001).

Um estudo na região Sul do Brasil, sobre doenças do sistema nervoso central em bovinos, demonstrou por meio de diagnóstico neuropatológico que, de um total de 305 bovinos com sinais clínicos de distúrbios nervosos analisados, 49,3% apresentaram resultado positivo para raiva (SANCHES *et al.*, 2000). Em outras regiões como a Sudeste e Centro-Oeste, tem havido um acréscimo nos casos de raiva nos últimos anos, com 1.498 casos no ano de 2000 (MARQUES & KOTAIT, 2001).

A raiva dos herbívoros é responsável por prejuízos econômicos na América Latina estimados em 30 milhões de dólares/ano, com a morte aproximada de 40.000 bovinos/ano (INSTITUTO PASTEUR, 1998). Em todo o mundo, a raiva bovina provoca uma perda anual de 50 milhões de dólares/ano (KING & TURNER, 1993). Particularmente, no Hemisfério Sul, o controle da raiva nestes animais é realizado pela redução na população de morcegos hematófagos e pelo uso de vacinas (ACHA & SZYFRES, 1986). Segundo ATANASIU (1968), o aparecimento de anticorpos é um sinal evidente para se reconhecer uma reação imunológica após vacinação. A vacinação de bovinos, principalmente, em áreas de alta concentração de morcegos hematófagos, não tem oferecido resultados plenamente satisfatórios, inclusive com registro de casos de raiva em animais vacinados (MONTAÑO *et al.*, 1987; RONDON *et al.*, 1995). RIBEIRO NETO *et al.* (1973) realizaram estudo comparativo com vacinas antirrábicas para bovinos, e constataram que no Brasil, para alguns tipos de vacinas, a imunidade não persiste mais que 45 dias. Outros autores também têm demonstrado a ineficiência de certos tipos de vacinas 30 dias após o uso (ALBAS *et al.*, 1995; QUEIROZ DA SILVA *et al.*, 2003). Experimentalmente, tem sido comprovado que doses de reforços conseguem níveis de anticorpos mais elevados (ITO *et al.*, 1991; CORTES *et al.*, 1993; RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2000; ALBAS, 2003).

Este trabalho teve por objetivo avaliar e comparar os níveis de anticorpos induzidos por cinco esquemas alternativos de vacinação contra a raiva em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Neste trabalho foram utilizados 45 bovinos da raça ½ Pardo Suíço x ½ Holandês, fêmeas, com idade aproximada de um ano, mantidos na Estância Lolita, Município de Regente Feijó, SP. Estes animais foram observados por um médico veterinário e estiveram em condições adequadas de saúde durante a execução deste trabalho. Os bovinos foram cedidos pelo proprietário da fazenda. Os 45 bovinos foram distribuídos em 5 grupos com 99 animais cada, denominados de A, B, C, D e E, os quais foram submetidos a 5 esquemas diferentes de vacinação.

O manuseio dos animais neste projeto foi considerado adequado aos princípios éticos, recomendados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) - UNESP - Campus de Botucatu, SP, Protocolo nº 416.

Vacina

Foi utilizada uma vacina contra a raiva indicada para herbívoros denominada BGS - Cell, produzida pelo Laboratório Hertape Ltda, MG, Brasil, sendo formada de uma suspensão de vírus rábico, cepa PV, replicado em células BHK - 21, clone 13. O vírus foi inativado pela BEI (Bromoetileinimine) e a suspensão teve como adjuvante o hidróxido de alumínio. A partida utilizada foi a de nº 009/02, com valor antigênico 10^{4.53} aferido pelo teste de HABEL (1996).

Vacinação

Os animais do grupo A receberam apenas uma dose de vacina no dia 0, contendo volume de 2 mL, aplicada com seringa previamente graduada. No grupo B, os animais também receberam o mesmo tratamento, porém 30 dias após a primeira vacinação, receberam uma dose de reforço (booster). Os animais do grupo C foram vacinados no dia 0 e a dose de reforço foi aplicada 180 dias após. Quanto ao grupo D, além da dose do dia zero, os bovinos receberam mais duas doses de reforço, sendo uma no dia 30 e outra no dia 60. Os animais do grupo E receberam uma dose no dia 0 como todos os outros, porém, as duas doses de reforço foram aplicadas nos 30 e 180 dias, após a primeira vacinação.

Colheita das Amostras

Inicialmente, foram colhidas amostras de todos os animais no dia zero com a finalidade de avaliar os

títulos de anticorpos antirrâbicos, para constatar se não houve estímulo antigênico anterior ao do experimento. Em seguida, foram colhidas amostras de sangue dos bovinos dos grupos A, B, C, D e E nos dias 30, 60, 90, 180, 210 e 360. Após a coagulação, à temperatura ambiente, as amostras foram clarificadas por centrifugação, inativadas a 56° C por 30min, separadas e distribuídas em volumes de aproximadamente 2 mL, sendo em seguida armazenadas a -20° C, até o momento de uso.

Teste rápido de inibição de focos fluorescentes (RFFIT)

Os títulos individuais de anticorpos neutralizantes foram determinados pela técnica de soroneutralização em células BHK₂₁ clone 13. Esse teste foi baseado no Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test - RFFIT (SMITH *et al.*, 1996) e no Fluorescence Inhibition Microtest - FIMT (ZALAN *et al.*, 1979). Foi utilizado soro eqüino de referência nacional, lote BR 007, fornecido pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), contendo 204 UI/mL. As células foram marcadas com imunoglobulina antinucleocapsídeo rábico, conjugada com isotiocianato de fluoresceína (Sanofi-Pasteur) e foram observados 10 campos em cada orifício da microplaca em microscópio de fluorescência invertido (Nikon TE-300) com aumento de 100 vezes. Foi considerado positivo o campo que apresentou um ou mais focos fluorescentes, e assim, se determinou a diluição eficaz do soro que protegeu 50% das células inoculadas contra a infecção pelo vírus rábico (DE₅₀) e os títulos de anticorpos neutrali-

zantes foram expressos em UI/mL. Os cálculos foram efetuados pelo método de Spearman Karber (AUBERT, 1996).

Para análise estatística dos resultados, os títulos individualizados dos animais foram transformados, usando-se $\log_{10}(X+1)$, e foi utilizado o teste t independente, não paramétrico, para avaliação dos cruzamentos sempre de 2 em 2 colunas (2 populações). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

As Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5 mostram os resultados individualizados dos títulos de anticorpos de bovinos vacinados contra a raiva, respectivamente, nos grupos A, B, C, D e E. Os valores do RFFIT estão apresentados em Unidades Internacionais por mL (UI/mL) e pode-se observar também, as médias geométricas \pm o desvio padrão, bem como as porcentagens dos títulos $\geq 0,5$ UI/mL.

Quanto as médias geométricas, as análises estatísticas demonstraram que, na Tabela 1, não houve diferenças significativas entre os títulos de anticorpos dos animais, porém, na Tabela 2, houve diferenças entre os títulos referentes ao dia 60 em relação aos outros dias ($p < 0,05$), o mesmo ocorrendo na Tabela 3 referente ao dia 210, em relação aos demais. Em relação à Tabela 4, estatisticamente, os títulos referentes aos dias 60 e 90 não diferiram entre si. No entanto, ambos foram diferentes dos demais. Finalmente, na Tabela 5, os títulos referentes aos dias 60 e 210 não diferiram entre si, porém, ambos diferiram dos demais ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Valores individuais dos títulos de anticorpos (UI/mL) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com uma dose de vacina (Grupo A).

Animal	Dia Zero (Controle)	Dia 30	Dia 60	Dia 180	Dia 360
1	0	0,58	0,58	0,41	0,41
2	0	0,26	0,22	0,09	0,09
3	0	0,21	0,27	0,08	0,15
4	0	0,22	0,61	0,23	0,31
5	0	0,25	0,25	0,06	0,07
6	0	0,12	0,15	0,07	0,07
7	0	0,31	0,12	0,36	0,44
8	0	0,71	0,25	0,54	0,19
9	0	0,07	0,04	0,06	0,05
Média \pm DP	0	0,25 \pm 0,21	0,21 \pm 0,20	0,15 \pm 0,18	0,15 \pm 0,16
% $\geq 0,5$	0	22,2	22,2	11,1	0

Tabela 2 - Valores individuais dos títulos de anticorpos (UI/mL) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com duas doses de vacina, sendo uma no dia 0 e o reforço no dia 30 (Grupo B).

Animal	Dia Zero (Controle)	Dia 30	Dia 60	Dia 180	Dia 360
10	0	0,58	1,17	0,29	0,09
11	0	0,58	4,69	0,51	0,15
12	0	0,09	4,37	0,72	0,19
13	0	0,38	4,69	0,29	0,09
14	0	0,27	2,51	0,55	0,33
15	0	0,33	5,47	0,95	0,19
16	0	0,71	3,82	1,66	0,36
17	0	0,71	3,86	0,27	0,08
18	0	0,38	3,86	0,83	0,22
Média ± DP	0	0,39±0,21	3,54±1,29	0,57±0,44	0,17±0,10
% ≥0,5	0	44,4	100	66,6	0

Tabela 3 - Valores individuais dos títulos de anticorpos (UI/mL) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com duas doses de vacina, sendo uma no dia 0 e o reforço no dia 180 (Grupo C).

Animal	Dia Zero (Controle)	Dia 30	Dia 60	Dia 180	Dia 210	Dia 360
19	0	0,46	0,46	0,36	4,76	0,44
20	0	1,42	1,30	1,15	1,11	0,72
21	0	0,35	0,35	0,09	8,28	0,44
22	0	0,14	0,14	0,09	3,08	0,22
23	0	0,14	0,14	0,08	1,03	0,22
24	0	0,89	0,89	0,72	6,28	0,67
25	0	0,89	0,89	0,48	3,61	0,22
26	0	0,46	0,46	0,12	2,55	0,19
27	0	0,46	0,46	0,17	3,10	0,35
Média ± DP	0	0,45±0,41	0,44±0,38	0,23±0,37	2,56±1,19	0,39±0,20
% ≥0,5	0	33,3	33,3	22,2	100	22,2

Tabela 4 - Valores individuais dos títulos de anticorpos (UI/mL) em soros de bovinos vacinados com 3 doses de vacina, sendo uma no dia 0 e os reforços nos dias 30 e 60 (Grupo D).

Animal	Dia Zero (Controle)	Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 180	Dia 360
28	0	0,28	6,10	1,46	0,55	0,22
29	0	0,26	6,10	5,47	1,11	0,44
30	0	0,29	1,00	9,52	1,57	0,44
31	0	0,22	3,81	5,10	0,55	0,22
32	0	0,18	4,69	6,28	1,11	0,44
33	0	0,89	5,86	7,21	2,88	0,72
34	0	0,19	3,36	3,36	1,78	0,17
35	0	0,72	5,86	3,61	3,17	0,29
36	0	0,63	4,07	4,71	0,19	0,11
Média±DP	0	0,34±0,27	4,08±1,69	4,64±2,35	1,07±1,03	0,29±0,19
% ≥0,5	0	33,3	100	100	88,9	11,1

Tabela 5 - Valores individuais dos títulos de anticorpos (UI/mL) em soros de bovinos vacinados com 3 doses de vacina, sendo uma no dia 0 e os reforços nos dias 30 e 180 (Grupo E).

Animal	Dia Zero (Controle)	Dia 30	Dia 60	Dia 180	Dia 210	Dia 360
37	0	0,26	2,80	0,59	5,86	0,44
38	0	0,38	4,69	1,09	11,72	2,15
39	0	0,58	3,60	1,55	7,73	1,35
40	0	0,16	4,15	1,09	10,93	0,77
41	0	0,34	6,28	0,36	11,72	0,36
42	0	0,21	12,55	1,78	7,73	0,51
43	0	0,44	17,80	1,02	14,43	1,44
44	0	0,52	15,46	0,67	2,22	0,22
45	0	0,41	3,86	0,77	9,52	0,59
Média±DP	0	0,34±0,14	6,33±5,75	0,89±0,46	8,16±3,66	0,69±0,64
% ≥0,5	0	22,2	100	88,9	100	66,6

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

No Brasil, não existem testes oficiais para avaliar se determinada vacina produziu soro-conversão em bovinos, em condições de campo. Os testes limitam-se em aprovar ou desaprovar as vacinas com base em ensaios de laboratório (HABEL, 1996). A Instituição responsável pela pelos testes das vacinas de uso animal em todo o país é o LARA (Laboratório de Referência Animal), credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, situado em Campinas, SP, que atualmente utiliza o método preconizado pelo National Institute of Health (NIH) (WILBUR & AUBERT, 1996).

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia de 5 esquemas alternativos de vacinação contra a raiva em bovinos: Um grupo foi vacinado com apenas uma dose (sem reforço), 2 grupos com uma dose de reforço nos dias 30 e 180) e 2 grupos com duas doses de reforço (dias 30 e 60 e dias 30 e 180).

Neste trabalho foi utilizado o teste rápido de iniciação de focos fluorescentes (RFFIT) que é recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), por meio da qual é determinado o título de anticorpos de indivíduos submetidos à vacinação. Um indivíduo para ser considerado imunizado precisa obter títulos de anticorpos = 0,5 Unidades Internacionais por mL (UI/mL), e se o título estiver abaixo, haverá necessidade da aplicação de uma dose de vacina como reforço (WHO, 1992).

Nenhum dos animais utilizados neste estudo apresentou títulos de anticorpos no soro, antes do início das vacinações, demonstrando que não houve estímulo antigênico anterior ao do experimento. Vários autores têm pesquisado a resposta imune em bovinos e constataram que a resposta se apresentou heterogênea, havendo animais não respondedores, intercalados com animais que apresentaram valores

baixos, médios e altos (TZARD, 1977; CIUCHINI *et al.*, 1981; ALBAS *et al.*, 1998).

Observando-se os resultados das médias geométricas dos grupos A, B, C, D e E, respectivamente, correspondendo às tabelas 1, 2, 3, 4 e 5, pode-se constatar que, no dia 30, todas as amostras estiveram abaixo do mínimo recomendado pelo teste de RFFIT que é de 0,5 UI/mL. Os resultados analisados pelo percentual de amostras reagentes mostraram comportamento similar. Estes resultados foram similares aos observados por QUEIROZ DA SILVA *et al.* (2003), que detectaram 10% de positividade em uma das quatro vacinas para uso bovino avaliadas, na região de Araçatuba, SP, um mês após a vacinação. Ainda, em relação ao grupo A, além do baixo nível de anticorpos no dia 30, esta média baixou mais ao longo do período, alcançando média geométrica de 0,15 UI/mL e 0% de valores reagentes no dia 360. Outros autores também obtiveram baixos títulos de anticorpos, 30 dias após o uso de uma dose de vacina (ROEHE *et al.*, 1987; ALBAS *et al.*, 1995). PASTORET *et al.*, (1995) alerta que o uso de apenas uma dose de vacina não é suficiente para proteger os animais contra a raiva, havendo, portanto, a necessidade de doses de reforço.

No grupo B (Tabela 2), os animais receberam duas doses de vacina (dias zero e 30). O reforço aplicado no dia 30 potencializou a reposta imune humoral, elevando significativamente os níveis de anticorpos para 3,54 UI/mL, porém não impediu que houvesse decréscimo acentuado com o passar do tempo, tanto que um ano após o experimento, a média caiu para 0,17 UI/mL e 0% de bovinos, com percentagem de anticorpos = 0,5 UI/mL. ALBAS *et al.* (1998) constataram 19% de proteção em bovinos que receberam dose de reforço no dia 30, após 360 dias do experimento e QUEIROZ DA SILVA *et al.* (2003) obtiveram resultados idênticos, ou seja, apenas 20%, após um ano. Os resultados observados no grupo C, reforço aplicado

aos 180 dias (Tabela 3), mostraram que, a exemplo do grupo B, 30 dias após a dose de reforço, os níveis de anticorpos aumentaram, porém não foram mantidos ao longo do experimento, tendo sido observado queda de 2,56 UI/mL (dia 210) para 0,30 UI/mL (dia 360), além do que, o percentual de amostras positivas (= 0,5 UI/mL) um ano após o início do experimento, ficou em 22,2%. ALBAS (2003), pesquisando o efeito de um reforço tardio, aplicado no dia 180, mostrou melhores resultados, com 93,3% de amostras positivas no dia 540. Vários fatores poderiam ter causado esta aparente discrepância. A possibilidade mais viável, pode ter sido o alto valor antigênico do lote de vacina utilizada que foi de $10^{8.08}$, enquanto que neste experimento o título da vacina usada foi de apenas $10^{4.53}$. Também, não se pode descartar a possível interferência do tipo de teste utilizado, uma vez que, no trabalho anterior foi utilizado o teste de soroneutralização em camundongos (SN), enquanto que, na presente investigação se fez uso do teste rápido de inibição de focos fluorescentes (RFFIT). HAASE *et al.* (1985) e GLÜCK *et al.* (1987), comparando os dois testes, verificaram que os resultados de SN chegaram a ser de 2 a 10 vezes superiores ao RFFIT, quando pesquisaram resposta imune em pessoas vacinadas contra a raiva.

No grupo E (Tabela 5), os bovinos também receberam duas doses de reforço (dia 30 e 180) e os níveis de anticorpos tiveram taxas mais elevadas que os demais grupos até o final do experimento. É importante ressaltar, entretanto, que os níveis observados 360 dias, após a vacinação (média geométrica), foram ainda superiores a 0,5 UI/mL, bem como, o percentual de amostras positivas (66,6%). UMEHARA *et al.* (2002) também obtiveram resultados com níveis elevados de anticorpos (acima de $2,264 \log_{10}$), com aplicação de duas doses de vacina como reforço em bovinos, porém, estes reforços foram administrados nos dias 90 e 360.

Pode-se concluir que o esquema B, utilizado no grupo de bovinos, que recebeu dose de reforço precoce (30 dias após a primeira dose), não apresentou diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo A, que não recebeu dose de reforço. O mesmo pode-se concluir dos esquemas C e D, cujos animais receberam uma e duas doses de vacinas como reforços, respectivamente, e que, não atingiram os resultados esperados, uma vez que, o grupo C concluiu o experimento com 22,2% de amostras reagentes e o D com 11,1%.

Com base nesses resultados, o esquema E, que empregou uma dose no dia 0, sendo o primeiro reforço no dia 30 e o segundo no dia 180, foi mais eficiente que os demais, corroborando com a indicação do programa de controle da raiva dos herbívoros para o Estado de São Paulo, que recomenda revacinações semestrais para áreas consideradas epidêmicas. Alerta para o devido cumprimento desta indicação, tendo em vista os resultados deste experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N. & SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales*. 2.ed. Washington, Organizacion Panamericana de la Salud, 1986. p.502-526. (Publicacion Cientifica n.503).
- ALBAS, A. *Vacina anti-rábica em bovinos: efeito de doses de reforço*. 68p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Univ. Estadual Paulista, Botucatu: 2003.
- ALBAS, A.; ALBERTI, H.; ALBERTI, A.L.L.; PARDO, P.E.; GIOMETTI, J. Ausência de resposta imune em bovinos vacinados contra a raiva na região de Presidente Prudente, SP. *Hora Veterinária*, v.86, p.64-66, 1995.
- ALBAS, A.; PARDO, P.E.; GOMES, A.A.B.; ITO, F.H. Effect of a booster-dose of rabies vaccine on the duration of virus neutralizing antibody titers in bovines. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, n.31, v.4, p.367-371, 1998.
- ATANASIU, P.; FUENZALIDA, E.; ACHA, P.; SZYFRES, B. Inmunidad antirrábica en bovinos vacunados. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, v.64, p.431-440, 1968.
- AUBERT, M.F.A. Methods for the calculation of titres. In: MESLIN, F.X.; KAPLAN, M.M.; KOPROWSKI, H. (Eds.). *Laboratory techniques in rabies*. 4.ed. Geneva: WHO, 1996. Appendix, n.3, p.445-459.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas. 2001. *Boletín: Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas*.
- CIUCHINI; IRSARA, A.; PESTALOZZA, S.; TRANI, L.; ANTONUCCI, G. Risposta immunitaria in bovini vaccinati contro la rabia com virus attenuato ceppo ERA. *Revista di Zootecnia Veterinaria*, n.9, p.176-184, 1981.
- CÓRTEZ, J.A.; RWEYEMAMU, M.M.; ITO, F.H.; UMEHARA, O.; MEDEIROS NETO, R.R.; DE LUCCA NETO, D.; BALTARAZAR, M.C.; VASCONCELLOS, A.S.; VASCONCELLOS, M.P.E. Immune response in cattle induced by inactivated rabies vaccine adjuvanted with aluminium hydroxide either alone or in combination with avridine. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v.12, p.941-955, 1993.
- GLÜCK, R.; WEGMANN, A.; KELLER, J.M.; HOSKINS, J.M.; GERMANIER, R. Human rabies immunoglobulin assayed by the rapid fluorescent focus inhibition test suppresses active rabies immunization. *Journal Biological Standardization*, n.15, p.177-182, 1987.
- HAASE, M.; SEINCHE, D.; SCHNEIDER, W. The mouse neutralization test in comparison with the rapid fluorescent focus inhibition test: differences in the results in rabies antibody determination. *Journal Biological Standardization*, n.13, p.123-128, 1985.
- HABEL, K. Habel test for potency. MESLIN, F.X.; KAPLAN, N.M.; KOPROWSKI, H. (Eds.). *Laboratory techniques in rabies*. 4.ed. Geneva: WHO, 1996., p.369-373.
- ITO, F.H.; CÓRTEZ, J.A.; RWEYEMAMU, M.M.; UMEHARA, O.; MEDEIROS NETO, R.R.; DE LUCCA NETO, D.; BALTARAZAR, M.C.; VASCONCELLOS, A.S.; VASCONCELLOS, M.P.E. Course of humoral immune response shortly after revaccination with BHK-21 cell culture inactivated rabies vaccine adjuvanted with aluminium hydroxide. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, n.28, p.51-57, 1991.

- KING, A.A. & TURNER, G.S. Rabies: A review. *Journal Comparative Pathology*, n.108, p.1-39, 1993.
- INSTITUTO PASTEUR. São Paulo. Controle da raiva dos herbívoros, São Paulo: Instituto Pasteur, 1998. (Manual Técnico do n.1).
- MARQUES, G.H.F. & KOTAIT, I. Situação epidemiológica da raiva dos herbívoros no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE MORCEGOS COMO TRANSMISSORES DA RAIVA, 2001, São Paulo. *Resumos*. São Paulo, 2001. p.27.
- MONTAÑO, J.A.; POLACK, G.W.; MORA, E.F. Raiva bovina em animais vacinados. II – Situação epidemiológica no Estado do Paraná, Brasil – 1984. *Arquivo de Biologia e Tecnologia*, v.30, n.2, p.367-380, 1987.
- OLIVEIRA, A.N.; ANDRADE, M.C.R.; SILVA, M.V.; MOURA, W.C.; CONTRERAS, E.C. Immune response in cattle vaccinated against rabies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* v.95, n.1, p.83-88, 2000.
- PASTORET, P.P.; THOMAS, I.; BROCHIER, B.; SCHWERS, A. Les problèmes associés à la vaccination antirabique des animaux domestiques. *Annales de Médecine Vétérinaire*, n.129, p.339-349, 1995.
- QUEIROZ DA SILVA, L.H.; CARDOSO, T.C.; PERRI, S.H.V.; PINHEIRO, D.M.; CARVALHO, C. Pesquisa de anticorpos anti-rábicos em bovinos vacinados na região de Araçatuba, SP. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, [online] v.70, n.4, p.407-413, 2003. Disponível em: <http://www.biológico.sp.gov.br/arquivos/v70_4/silva2.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2005
- RIBEIRO NETO, A.; NILSSON, M.R.; DE ANGELIS CORTES, J.; MIZUNO, M.; MIGUEL, O. Comparative study of cattle antirabies vaccine. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, v.20, p.398-404, 1973.
- RODRIGUES DA SILVA, A.C.; CAPORALE, G.M.M.; GONÇALVES, C.A.; TAGUETA, M.C.; COMIN, F.; ZANETTI, C.R.; KOTAIT, I. Antibody response in cattle after vaccination with inactivated and attenuated rabies vaccines. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.42, n.2, p.95-98, 2000.
- ROEHE, P.M.; CUNHA, A.C.; KING, A. Níveis de anticorpos neutralizantes em bovinos vacinados contra raiva. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.7, n.3, p.63-65, 1987.
- RONDON, E.S.; BASTOS, P.V.; SILVA, D.A.; PICCINI, R.S. Estudo comparativo da sintomatologia clínica de bovinos suspeitos de raiva. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, p.253-259, 1995.
- SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.20, n.3, p.113-118, 2000.
- SMITH, J.S.; YAGER, P.A.; BAER, G.M. A rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) for determining rabies virus-neutralizing antibodies. In: MESLIN F.X.; KAPLAN, M.M.; KOPROWSKI, H. (Eds.). *Laboratory techniques in rabies*. Geneva WHO, 1998. p.181-192.
- TADEI, V.A.; GONÇALVES, C.A.; PEDRO, W.A.; TADEI, W.J.; KOTAIT, I.; ARIETA, C. Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae) no Estado de São Paulo e a raiva dos animais domésticos. Campinas CATI, 1991. (Impresso Especial CATI n.107).
- TIZARD, I.R. *An introduction to veterinary immunology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1977.
- UMEHARA, O.; DE LUCCA NETO, D.; MORO, E.; BERNARDI, F.; ITO, F.H.; RODRIGUES, C.A. Rabies virus neutralizing antibody profile in cattle vaccinated with inactivated vaccine adjuvanted with either aluminium hydroxide alone or combined with avridine. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.69, n.1, p.23-28, 2002.
- WILBUR, L.A.; AUBERT, M.F. The NIH test for potency. In: MESLIN F.X.; KAPLAN, M.M.; KOPROWSKI, H. (Eds.). *Laboratory techniques in rabies*. 4.ed. Geneva WHO, 1996. p.360-368.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION EXPERT COMMITTEE ON RABIES. Eighth report. Geneva: World Health Organization, Technical Report Series 1992. (WHO Technical Report Series, n.824).
- ZALAN, E.; WILSON, C.; PUKITIS, D. A microtest for the quantitative of rabies virus neutralizing antibodies. *Journal of Biological Standardization*, n.3, p.213-220, 1979.

Recebido em 1/6/05

Aceito em 30/6/05