

samples were collected by cardiac puncture in sixty animals (thirty-eight of the first colony and twenty-two of the second colony) and the presence of rabies virus neutralizing antibodies was determined by SFIMT (Simplified Fluorescent Inhibition Microtest). The antigenic characterization of the isolates was made using a panel of monoclonal antibodies, which was produced and provided by Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta, U.S.A), as established by Pan- American Health Organization for characterization of rabies isolates in Americas. Five bats were positive to rabies by FAT and MIT in each colony, 12% in the first colony and 12.5% in the second. However, two bats dead of the second colony were unsuitable for rabies diagnosis by traditional techniques and their brains were submitted to RTPCR with positive results, totalizing seven positives bats indicating 23.3% of rabies virus positivity. All blood samples analyzed presented neutralizing antibodies titers and sixteen animals (40%) from the first colony and two (4.6%) of the second presented titers  $\geq 0.5$  UI/mL. There was a positive correlation between the incubation period in mice and the antibodies titers observed in the bats. The samples with the higher incubation period for MIT (29 days) were from bats that showed the highest neutralizing antibody titer. Some bats negative by MIT and FAT and apparently healthy, presented high antibodies titers. The antigenic characterization showed only one antigenic profile (positive just to MAb C12) observed in previous studies with samples isolated in the same species of bats in Brazil. Genetic characterization was performed by sequencing of a fragment of N protein region and the rabies genetic lineage identified in these study were segregated with isolates obtained from other *Histioteles velatus* samples isolated in other regions of Brazil. These results show the importance of these methodologies for the epidemiological surveillance of rabies virus in bats and the necessity of the monitoring of bat colonies in parks and environmental reserves frequented by humans and where living other wildlife species as preventive actions of rabies control.

#### PT.062 INVESTIGAÇÃO DE CASO DE RAIVA EM FELINO, MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, 2011

Mendes MCNC<sup>1</sup>, Bernardi F<sup>1</sup>, Paranhos NT<sup>1</sup>, Alves GM<sup>2</sup>, Oliveira JL<sup>3</sup> – <sup>1</sup>Centro de Controle de Zoonoses da Coordenação de Vigilância em Saúde – Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, <sup>2</sup>Supervisão de Vigilância em Saúde de Lapa/Pinheiros – Secretaria de Saúde do Município de São Paulo, <sup>3</sup>Supervisão de Vigilância em Saúde de Jabaquara/Vila Mariana – Secretaria de Saúde do Município de São Paulo

Em 1969, no Município de São Paulo ocorreram 989 casos de raiva animal e cinco casos de raiva humana. Entre 1969 e 1973 (fundação do Centro do Controle de Zoonoses- CCZ/SP), o número de casos de raiva humana aumentou 2,2 vezes, o número de animais vacinados cresceu cinco vezes e observou-se um decréscimo dos casos de raiva animal, chegando a 56% do total ocorrido em 1969. A partir de 1981 não ocorreram mais casos humanos e entre 1983 e 2010 não foram registrados casos autóctones em cães e gatos. O perfil epidemiológico da raiva vem mudando em todo o Brasil, com restrição da área de circulação da cepa canina do vírus. Nas regiões em que a raiva foi controlada nos animais domésticos, os casos de raiva em humanos diminuíram e os animais silvestres passaram a representar um novo desafio. Em São Paulo a variante canina não tem sido mais detectada. Atualmente as variantes circulantes são relacionadas a quirópteros, ocorrendo anualmente, em média, dois a quatro casos em morcegos não hematófagos. Em 01/12/2011 o CCZ/SP foi comunicado de diagnóstico positivo para raiva de um felino, com histórico de contato com quiróptero e morte sem sintomatologia. O animal foi a óbito no

dia 3/10/2011 e encaminhado no dia 04/10/2011 para a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP com suspeita de envenenamento. A liberação do resultado positivo ocorreu em 01/12/2011. O felino, uma fêmea, castrada, dez anos, tinha livre acesso à rua e histórico de vacinação anterior a 2010. No imóvel situado em área estritamente residencial no Distrito de Moema, vivem cinco cães e 23 felinos. A região é bastante arborizada, com árvores que podem oferecer abrigo e alimento para diferentes espécies de morcegos, nas proximidades de um parque arborizado, Parque do Ibirapuera (à 750m de distância). Frente à confirmação da variante *Desmodus rotundus/Artibeus lituratus* desenvolveram-se ações de bloqueio em área de 500m de raio, a partir do foco. Foram realizadas visitas domiciliares, levantamento de abrigos, avaliação e orientação para encaminhamento médico de moradores e frequentadores da casa que tiveram contato com o animal doente, vacinação contra raiva e identificação de todos os animais da moradia, com observação por 180 dias a partir do óbito do animal positivo. Todos os imóveis da área de abrangência foram visitados, totalizando 1.277 imóveis trabalhados, 769 fechados e 140 recusas. Houve distribuição de material educativo, e foram vacinados contra raiva 102 cães e 16 gatos, com histórico de mais de seis meses de vacinação, no raio de cobertura de foco. Os animais contactantes foram acompanhados pelo CCZ, no período de observação, mantendo-se saudáveis. Recomenda-se o implemento de ações de vigilância: – laboratorial; – das agressões; – de rumores e casos suspeitos de animais com morte súbita ou histórico de contato com quirópteros ou outros animais silvestres e a revisão de estratégias do controle da raiva devido à mudança da situação epidemiológica da doença no município.

#### PT.063 ANTIGENIC AND GENETIC STABILITY OF RABIES VIRUS AFTER CONSECUTIVE PASSAGES IN MICE AND IN CELLS

Batista HBCR<sup>1</sup>, Oliveira RN<sup>2</sup>, Carnieli Jr P<sup>2</sup>, Rodrigues AC<sup>2</sup>, Santos SO<sup>2</sup>, Fahl WO<sup>2</sup>, de Paula FC<sup>2</sup>, Carrieri ML<sup>2</sup>, Kotait I<sup>2</sup>, Castilho JG<sup>2</sup> – <sup>1</sup>Instituto Pasteur – Virologia, <sup>2</sup>Instituto Pasteur

Despite the recognized stability of the rabies virus (RABV), antigenic and genetic differences among strains isolated from different species have been found. Different factors may be involved in generating heterogeneity in RABV, including duration of infection, virus load and host immune response. This work was carried out in order to examine the antigenic and genetic stability of RABVs isolated from different natural reservoirs and to help the understanding of viral pathogeny after consecutive passages in different systems. In this study were used three RABV strains, one isolated from canine, one isolated from haematophagous bat and the standard rabies virus strain (Challenge Virus Standard – CVS). These strains were submitted to five consecutive passages in mice and in cells. The consecutive passages in mice were made by intracerebral route, for that, groups of six mice were submitted to five inoculations with each one of the three RABV strains. The inoculated mice were observed daily and the dates of death were recorded. The consecutive passages in cells were made in “Neuroblast albino mouse” (N2a) cell lineage, for that, the strains were inoculated in suspension cells and incubated for 72 hours, subsequently, cells were frozen and thawed three times. Both mice and cell passages were submitted to antigenic and genetic characterization. The antigenic characterization was determined by indirect immunofluorescence (IIF) with a panel of eight monoclonal antibodies (Mabs) raised to RABV antigens. For the genetic characterization the total RNA was extracted with Trizol and submitted to reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) with primers targeting the N and the G genes, the amplicons obtained were subjected to nucleotide sequence analysis. The RABV sequences were analyzed using Bioedit package.

None significant modification was detected in the RABV pathogeny after five consecutive passages, for all RABVs analyzed. The N gene, shown the same characteristics after five consecutive passages in both systems analyzed (mice and cells) for the tree RABV strains. The RABV isolated from canine and the CVS, shown the same nucleotide sequence for the G gene after five passages in mice and in cells. The RABV isolated from haematophagous bat shown one amino acid change in the G gene after five passages, as in cells as in mice. Our results confirm the high stability of RABV and indicate minor genetic stability of RABV isolated from haematophagous bat than RABV isolated from canine, more experiments could be made to confirm these results. Financial support: Instituto Pasteur

#### PT.064

### OCORRÊNCIA DE RAIVA EM HUMANO TRANSMITIDA POR ANIMAL SILVESTRE, EM ABRIL 2012, NO MUNICÍPIO DE TAPURAH-MT.

Reis VGL<sup>1</sup>, Rocha SM<sup>2</sup>, Almeida NN<sup>1</sup>, Barros MC<sup>1</sup>, Reis RC<sup>3</sup> – <sup>1</sup>SES-MT – Vigilância em Saúde Ambiental, <sup>2</sup>Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério – GT Raiva, <sup>3</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Cuiabá – CCZ

A raiva é uma doença infecciosa aguda, causada por um vírus, que compromete o sistema nervoso central (SNC), levando a um quadro de encefalomielite aguda, cuja letalidade é de aproximadamente 100% (Brasil, 2005; Brasil, 2009 e Kotait *et al*, 2009). Os animais domésticos, silvestres terrestres e morcegos são os maiores transmissores dessa doença aos seres humanos principalmente pelo contato da saliva contaminada por meio de mordedura, lambidura ou arranhadura (KOTAIT *et al*, 2009 e WADA *et al*, 2011). O vírus da raiva apresenta uma alta capacidade de adaptação a diferentes espécies de mamíferos, sendo esta doença com ampla distribuição mundial, ocasionando grande impacto socioeconômico e gerando um grave problema de saúde pública (KOTAIT *et al*, 2009; e WADA *et al*, 2011). Diante da problemática da ocorrência desta doença em escala mundial este estudo teve como objetivo avaliar o número de atendimentos por agressões causadas por animais silvestres, sobretudo por morcegos, no estado do Mato Grosso no período de janeiro de 2007 a julho de 2012, através dos dados registrados no SINAN/DATASUS/MS/SES-MT. De acordo com os registros do SINAN, para o período analisado foram notificadas 688 agressões a humanos por animais silvestres. Destes casos de agressões notificadas, 3,0% (21/688) a espécie agressora foi a raposa, 23,5% (162/688) foram por primatas não-humanos e 73,4% (505/688) foram por morcegos. As agressões por morcego correspondem em média 84,1 (505/6) agressões por ano, sendo 64,7% (327/505) destes atendimentos registradas na zona urbana e 35,2% (178/505) na zona rural. Este estudo corrobora com os realizados por Reis *et al*, 2010; e Wada *et al*, 2011, em que as agressões por morcego segue um padrão onde os maiores registros foram na zona urbana, sugerindo uma ascendente procura ao atendimento do serviço público de saúde. Este fato pode ser consequência da acessibilidade ao serviço de saúde na área urbana como também, a conscientização da população urbana em relação ao contato com estes animais. No período avaliado observou-se que os maiores contatos foram principalmente por morcegos não hematófagos, insetívoros e frugívoros, comuns em ambientes urbanos, como edificações e em árvores frutíferas, utilizadas em paisagismo cultural regionalizado, como em pomares e praças, facilitando a interação entre estas espécies, e com os caninos, felinos e humanos, podendo ocasionar graves consequências, fatos estes observados também nos estudos de Sodr e *et al*, 2010 e Ribeiro *et al*, 2010. Analisando os casos de raiva em morcego, no período estudado foram registrados em 2008, 02 casos em morcego não hematófagos. Embora não tenha observado registro

de positividade em morcegos hematófagos, no estado de Mato Grosso tem ocorrido casos de raiva em herbívoros, transmitidos por *Desmodus rotundus*, sugerindo assim uma subnotificação nos sistemas de informação. Este fato indica que o vírus rábico silvestre – compatível com a variante 3, tem circulado no estado representando assim um grande risco para a população humana. As notificações de agressões a humanos, os casos de raiva em morcegos, a ocorrência de raiva em herbívoros, dentre outros fatores, evidenciam o registro de um caso humano no município de Tapurah, diagnosticada por variante compatível de animal silvestre (variante 3) com sugestiva transmissão por cervídeo. Estas situações discutidas, sugerem que outros casos suspeitos de raiva poderão ocorrer, sendo necessária e de fundamental importância a implementação de ações de vigilância e condutas oportunas frente a contato por morcegos e outros animais silvestres, sinalizando um alerta a toda sociedade sobre o risco de transmissão da doença por estas espécies. Este estudo teve como incentivo os trabalhos desenvolvidos pelos professores Wilson Uieda e Ricardo Moratelli Rocha, e o apoio institucional da Secretaria Estado de Saúde do Estado de Mato Grosso. **Palavras-chave:** Raiva, Vigilância, Animais Silvestres, Quirópteros.

#### PT.065

### PHOSPHOPROTEIN P GENE IS NOT ASSOCIATED WITH RABV INCUBATION PERIOD AND LETHALITY

Fahl WO<sup>1</sup>, Scheffer KC<sup>1</sup>, Iamamoto K<sup>1</sup>, Carnieli Jr P<sup>1</sup>, Castilho JG<sup>1</sup>, Oliveira RN<sup>1</sup>, Carrieri ML<sup>1</sup>, Kotait I<sup>1</sup>, Brandão PE<sup>2</sup> – <sup>1</sup>INSTITUTO PASTEUR – VIROLOGIA, <sup>2</sup>Universidade de São Paulo – FMVZ-USP

The phosphoprotein P is multifunctional and the less conserved among *Rabies virus* (RABV) proteins, associated with the ribonucleoprotein (RNP), with a role in the binding of the polymerase L in the RNP. Interactions involving P are related to RABV tropism, the cell-to-cell virus spread and inhibition of innate immune response that interferes with or stops the replication of viruses. P is also involved in the trans-axonal transport of RABV and interferon (IFN) inhibition, which could modulate the pathogenesis viral. There are hypotheses that the RABV proteins polymorphisms can lead to variations in the replication efficiency of different strains of RABV in different hosts, culminating in variable viral titers, modulating viral pathogenesis and leading to different efficiencies of intra-axonal transport and function as a co-factor in the synthesis of viral RNA. However there is still much to be clarified on this subject. To this end, 29 RABV strains from bats of the genus *Artibeus* sp. isolated in mouse brain were selected with variable lethality (LET) and incubation periods (IP) in days after inoculation in the central nervous system of mice. The samples were subjected to titration in N2a cell cultures and complete sequencing of the P gene. Data analysis including LET, IP and titer in association with the pattern of segregation of the viral strains studied in the phylogenetic tree showed no association between these variables and polymorphisms of the P Gene. It can be speculated that other proteins, such as the polymerase L, currently under consideration by the authors, may have an important role in the modulation of incubation and lethality, when considering viral strains that are very closely related regarding the P gene. This information is applicable for discussions about the importance of rabies reservoirs, the dynamic of the virus and the different forms of host-virus co-evolution, contributing to further studies on RABV pathogenesis. Financial Support: Instituto Pasteur de São Paulo and CAPES