

PT.059**BATS AND RABIES IN THE NORTHWESTERN REGION OF SÃO PAULO STATE, BRAZIL.**

Casagrande DKA¹, Favaro ABBBC², Carvalho C³, Picolo MR⁴, Lopes AP¹, Favoretto SR⁵, Campos ACA⁶, Hernandez JCB⁷, Lot MS⁷, Albas A⁴, Pedro WA³, Queiroz LH³ – ¹UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Mestranda do Programa de Ciência Animal, ²UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Graduanda de Medicina Veterinária, ³UNESP – Faculdade e Medicina Veterinária de Araçatuba – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, ⁴APTA – Agência Paulista de Tecnologia Agropecuária de Presidente Prudente – Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Sorocabana, ⁵Instituto Pasteur de São Paulo e Universidade de São Paulo – Núcleo de Pesquisas em Raiva -ICB, ⁶USP – Universidade de São Paulo – Núcleo de Pesquisas em Raiva -ICB, ⁷UNIP – Araçatuba – Graduanda do Curso de Farmácia e Bioquímica

During the two last decades three distinct cycles of rabies were identified in the northwestern region of São Paulo State: the urban cycle characterized predominantly by canine rabies from 1993 to 1997 and the aerial and rural cycles starting in 1998, with the predominance of cases in bats in urban areas and in herbivores. Twenty six bat species were preliminarily reported in this geographical region, including *D. rotundus* and *Diaemus youngi* and from 1998 to 2007, a total of 4,035 bat samples were tested for rabies resulting 50 (1.2%) positive cases in nine non-hematophagous species: three Molossidae, five Vespertilionidae and one Phyllostomidae. The aim of the present research was to describe the occurrence of rabies in non-hematophagous bats and the presence of antibodies against rabies virus in vampire bats in the northwest of São Paulo State, during the period from January 2008 to July 2012. Rabies virus was detected in 22 (1.97%) out of 1117 non-hematophagous bats and none of the 190 vampire bats examined. 82% of the bat positive samples was submitted to antigenic and genetic characterization and the variant of *D. rotundus* was identified in 28% of them. Serum from 125 vampire bats captured in four different shelters were tested for rabies virus neutralizing antibodies and 28% (35/125) resulted negative; 65% (81/125) resulted positive with titer from 0.10 to 0.5UI/ml and 7% (9/125) higher than 0.5UI/ml. Most of vampire bats presenting antibody were female (61%) from a natural shelter located in a tree role. Although no vampire bat was found positive for rabies, four positive cases of rabies transmitted by that specie were detected in the studied region: three bovine cattle and one cat. The presence of high percentage of vampire bats with virus neutralizing antibody indicates a recent exposure to rabies virus, which confirms that, although this geographical area is considered as low or negligible risk for rabies in herbivorous, surveillance measures should be maintained. Financial Support: FAPESP (Process 2008/00976-0) and CNPq (Process 578281/2008- 2) CNPq Technical Support Fellows: Carvalho C, Picolo MR, Hernandez JC, Lot MS

PT.060**RAIVA EM MORCEGOS (MAMMALIA: CHIROPTERA) NO ESTADO DE PERNAMBUCO: PROBLEMAS E PERSPECTIVAS FUTURAS**

Silva LAM da¹, Machado JLM², Araujo ACR³, Oliveira J do CT de³, Silva-Filho TPda³, Silva EMVG da³, Silva RR da³ – ¹CAV/UFPE – Núcleo de Biologia, ²LANAGRO/PE – SECRETARIA ESTADUAL DE SAUDE, ³CAV/UFPE – GEMNE

O Estado de Pernambuco localiza-se na região Nordeste do Brasil possuindo 186 municípios distribuídos em cinco mesorregiões (Agreste, Metropolitana, São Francisco, Sertão e Zona da Mata), cada uma apresentando distintas variações socioeconômicas, sanitária, climáticas e fitogeográficas que podem influenciar na dinâmica da raiva local. A raiva pode ser subdividida em quatro ciclos o urbano, o silvestre, o rural e o aéreo, este último tem como principal agente participante os morcegos não hematófagos. O presente trabalho levantou o recebimento de amostras de morcegos pelo LANAGRO/PE para análise rábica entre 1991 e 2011 identificando localidade de encaminamento, espécies positivas e quando possível a espécie encaminhada. Nesse intervalo foram registradas 31.322 amostras para análise, destas 2,64% eram morcegos (n = 827) com uma maior representação das regiões metropolitanas (n = 443) e sertão (n = 291). Foi possível identificar 322 espécimes que pertenciam a 25 espécies e cinco famílias. *Molossus molossus* foi a espécie mais enviada (n = 151) seguida por *Glossophaga soricina* (n = 32). Houve um crescimento acentuado no envio de morcegos ao longo dos anos, partindo de uma única amostra em 1991 até 240 em 2011, os maiores valores foram para os últimos quatro anos. Entretanto, esse envio não é bem distribuído uma vez que apenas 52 municípios encaminharam amostras, com apenas nove enviando mais de dez amostras, permanecendo muitos municípios com a vigilância descoberta nesse grupo. Das 827 amostras recebidas 29 não se encontravam em condições adequadas para análise, estando mal conservadas, em elevado estágio de putrefação ou extremamente ressecadas. Cinquenta amostras foram positivas com ocorrências da região metropolitana ao sertão, 29 delas não foram identificadas, as demais pertenciam as seis espécies (*Molossus molossus*, *Desmodus rotundus*, *Artibeus planirostris*, *Myotis* sp, *Glossophaga soricina* e *Eptesicus furinalis*), muitos dos registros ocorreram no ambiente urbano. Os principais problemas detectados devem-se ao baixo número de amostras de morcegos recebido e ao elevado número de municípios sem encaminhamento que faz com que a situação do conhecimento da raiva nesse grupo no estado de Pernambuco ainda seja incipiente. Havendo assim a necessidade de ter como resolução futura, para minimizar esse efeito, se intensificar as ações de monitoramento da raiva em morcegos bem como formar protocolos para o registro, encaminhamento e identificação das espécies enviadas para análise, implantando equipes treinadas na identificação de morcegos e na resolução de problemas associados a esse grupo nos órgãos responsáveis pelo monitoramento da raiva facilitando assim o desenvolvimento do trabalho. Palavras – Chaves: quirópteros, ciclo aéreo, sinantrópicos, vigilância epidemiológica

PT.061**EPIDEMIOLOGIC, SEROLOGIC AND MOLECULAR STUDIES OF RABIES VIRUS ISOLATED IN BAT COLONIES OF *Histiotus velatus*, BRAZIL**

Martorelli LFA¹, Kataoka APAG¹, Campos ACA², Sodre MM¹, Araujo DB², Rosa AR¹, Trezza Netto J¹, Oliveira RN³, Almeida MF¹, Sacramento DRV⁴, Durigon EL², Favoretto SR^{2,3} – ¹Centro de Controle de Zoonoses-COVISA-PMSP, ²Universidade de São Paulo, ³Instituto Pasteur de São Paulo, ⁴Genomic Engenharia Molecular

Rabies was detected in two bats colonies of insectivorous *Histiotus velatus* that used as shelter ceilings of buildings in the same park in the North region of São Paulo City, Brazil in 2001 and 2009. This park although located in an urban area, has a large area of rainforest. Rabies diagnosis was made by FAT (Fluorescent Antibody Test) and MIT (Mouse Inoculation Test) techniques. The number of bats submitted to rabies diagnosis was forty-three in the first colony and forty in the second. Before it, bats received anesthetic and blood

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 ≥ 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 *Histiotus 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 MCNC¹, Bernardi F¹, Paranhos NT¹, Alves GM², Oliveira JL³ – ¹Centro de Controle de Zoonoses da Coordenação de Vigilância em Saúde – Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, ²Supervisão de Vigilância em Saúde de Lapa/Pinheiros – Secretaria de Saúde do Município de São Paulo, ³Supervisão 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 HBCR¹, Oliveira RN², Carnieli Jr P², Rodrigues AC², Santos SO², Fahl WO², de Paula FC², Carrieri ML², Kotait I², Castilho JG² – ¹Instituto Pasteur – Virologia, ²Instituto 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.