

PT.038**REDUÇÃO DA EXPOLIÇÃO E DO RISCO DE OCORRÊNCIA DA RAIVA EM HERBÍVOROS PELO CONTROLE POPULACIONAL DE *DESMODUS ROTUNDUS* NA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.**

ROMIUN PC¹, Bruno LM de P², Carneiro I de C, Bruno AM de P², Cattaneo CAM, Rubião EC, Kimura LMS³ – ¹PESAGRO-RIO – Centro Estadual de pesquisa em Sanidade Animal, ²SEAPEC, ³PESAGRO-RIO

A prevenção da difusão de enfermidades infecto-contagiosas pelo controle populacional dos transmissores/vetores é uma prática secular de comprovada eficácia, seja aplicada a roedores, carnívoros, invertebrados e pragas de vegetais. Para reduzir ao máximo a exposição de herbívoros à espoliação por morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* e conseqüentemente, ao risco de infecção por *Lyssavirus*, foram identificados abrigos com colônias de morcegos hematófagos, e estes monitorados semestralmente, com capturas e controle populacional eventuais, em três microbacias do Estado do Rio de Janeiro. Verificou-se que na microbacia de Miracema, os casos de Raiva transmitidos por *D. rotundus* foram se reduzindo a partir de 1995, quando foi iniciado o monitoramento dos abrigos e controle populacional da espécie. No intervalo de 36 meses (anos de 2005 a 2007) em que não houve controle populacional, os casos de Raiva em herbívoros tornaram a se elevar. Verificou-se que o repovoamento dos abrigos monitorados levava de 2 a 5 anos. Na microbacia envolvendo o município de Aperibé, o monitoramento dos abrigos e eventual controle populacional por 30 meses coincidiu com a ausência de Raiva em herbívoros ao longo de 5 anos (de 1996 a 2000). Também não foram notificados/diagnosticados casos de Raiva em herbívoros durante o monitoramento dos abrigos e eventual controle populacional, realizado por 30 meses nos municípios de Três Rios e Sapucaia. Conclui-se que o controle populacional de *D. rotundus* por técnicos experientes reduziu substancialmente o contato direto dos morcegos com animais domésticos susceptíveis nas microbacias trabalhadas, e conseqüentemente o risco de infecção quando da presença de *Lyssavirus* na saliva dos morcegos. Enquanto era realizado o controle populacional bianual de *D. rotundus* nos três ambientes distintos e isolados, não foram diagnosticados casos de Raiva em herbívoros domésticos ao longo dos períodos de monitoramento. Em não se realizando o controle populacional durante um mínimo de 48 meses, casos de Raiva em herbívoros passaram a acontecer nesses ambientes sob estudo. Em nenhum dos *D. rotundus* examinados foi encontrado *Lyssavirus* na saliva pela IFD, nem anticorpos específicos contra a virose no soro de 163 indivíduos examinados. É imprescindível ampliar a discussão quanto ao significado epizootico da detecção de anticorpos contra antígenos de *Lyssavirus* em mamíferos silvestres, e a possibilidade destes estarem infectados sem apresentação de quadro clínico (“portadores assintomáticos”).

PT.039**FATORES ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE RAIVA EM REGIÃO RURAL DE CAMPINAS/SP/BRASIL EM 2.001 e 2.002.**

Ramos LHM¹, Donalísio MR², Lourenço RW³ – ¹Prefeitura Municipal de Campinas – Secretaria Municipal de Saúde, ²UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas/Faculdade de Ciências Médicas – Departamento de Saúde Coletiva, ³UNESP – Universidade Estadual Paulista/Faculdade de Engenharia Ambiental

A raiva é uma zoonose de etiologia viral, com alta taxa de letalidade e ocorrência em bovinos e equídeos, que causa prejuízos sociais e econômicos, tendo como transmissor o morcego *Desmodus rotundus*. Em área rural do município de Campinas estado de São Paulo, foram registrados 29 casos de raiva

confirmados laboratorialmente em herbívoros, em 2001 e 2002. Técnicos da Secretaria de Saúde e da Agricultura realizaram um trabalho intenso e conjunto na prevenção da raiva animal e humana na região. O objetivo deste estudo é descrever o perfil epidemiológico da epizootia e analisar variáveis associadas aos óbitos na área de ocorrência. Foi realizado estudo transversal com a aplicação de questionário a 730 proprietários e moradores de imóveis da área, sendo que 5 propriedades não foram incluídas. As variáveis coletadas foram: espécie animal acometida, óbitos na propriedade nos últimos 6 meses, existência e tipo de abrigos de morcegos hematófagos, número de pessoas expostas ao vírus. Foram calculados coeficientes de mortalidade por raiva por espécie animal por 1000 indivíduos. Foi ajustado modelo de regressão logística múltipla, tendo como variável resposta a ocorrência de óbitos por raiva, e variáveis preditoras as acima referidas, utilizando-se os programas EPI-INFO 6.04 e, R para digitação e análises estatísticas. O coeficiente de mortalidade (CM) total foi de 2,3/1000 animais (n = 8230), em equídeos foi 17,9/1000 e em bovinos 1,97/1000. Em 81(11,1%) das propriedades foi referida a existência de abrigos de morcegos, sendo 27 (46,6%) do tipo árvore, 25 (43,1%) construção habitada e 6 (10,34%) construção abandonada. Foram contabilizadas 1278 pessoas que lidavam com os animais, sendo que 38 exerciam atividades nas propriedades com óbitos, portanto expostos diretamente ao risco de raiva humana. As variáveis estatisticamente significantes associadas aos óbitos obtidas no modelo foram: existência de abrigos de morcegos hematófagos na propriedade (OR = 3,2 IC 95% 1,03 – 9,91) e a ocorrência de óbitos em animais nos últimos 6 meses (OR = 32,64 IC 95% = 9,11 – 116,90). A análise de CM por espécie animal pode trazer informações relevantes na região. Observou-se o CM em equídeos 9 vezes maior que o de bovinos na área, diferente de dados da literatura. O estudo desta epizootia mostra o potencial de ocorrência em humanos vivendo e trabalhando nas proximidades dos casos em animais. A referência de mortes de animais em período recente (6 meses) foi preditora de raiva, sugerindo a circulação prévia do vírus e a falta de conscientização dos proprietários em manterem os animais vacinados. A associação entre a raiva animal e presença de morcegos tem sido relatada em outros estudos, reforçando a necessidade de monitoramento de colônias de morcegos em área rural. As ações de vigilância epidemiológica, educação em saúde e profilaxia animal e humana pressupõem ações intersetoriais de relevância para a prevenção e controle da raiva humana e animal.

PT.040**DIAGNÓSTICO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE VIRUS RÁBICO EN MUESTRAS EN AVANZADO ESTADO DE DESCOMPOSICIÓN**

Beltrán F¹, Gury Dohmen F¹, Del Pietro H², Cisterna DM³ – ¹Instituto de Zoonosis Luis Pasteur – Diagnóstico, ²Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria – Programa Nacional de Rabia Paresiante, ³INEL-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán – Servicio de Neurovirosis, Buenos Aires, Argentina

En Argentina existe una Red de Laboratorios Regionales de rabia que realizan el diagnóstico de rutina en animales a partir de muestras de cerebro mediante inmunofluorescencia directa (IFD) y aislamiento mediante ensayo biológico en ratones lactantes (EBRL). Las contramuestras de los positivos y/o los aislamientos de RABV se envían al Laboratorio Nacional de Referencia que es el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) o al Instituto de Zoonosis Luis Pasteur (IZLP) perteneciente al Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (GCABA), para identificar la especie reservorio usando un panel de anticuerpos monoclonales (caracterización antigénica). La toma, conservación y transporte adecuados de las muestras y/o aislamientos son factores decisivos para

la correcta realización e interpretación de estos ensayos. Las elevadas temperaturas, como las que se registran en las provincias del norte de Argentina, pueden ocasionar el deterioro de los cadáveres de los animales investigados, provocando que las muestras de cerebro presenten desde una licuefacción leve hasta un avanzado estado de descomposición. Estas condiciones afectan la sensibilidad de las pruebas diagnósticas dado que provocan la degradación de la estructura viral y la producción de toxinas bacterianas. Asimismo, si los aislamientos de RABV no se conservan a muy bajas temperaturas (-70°C), pierden rápidamente su viabilidad lo que ha provocado la pérdida de muchas colecciones de RABV en laboratorios que carecen de la infraestructura adecuada. Se evaluó una técnica de RTPCR de un paso para el diagnóstico y caracterización molecular en muestras de tejido cerebral en avanzado estado de descomposición y en aislamientos antiguos. Se tomó un grupo de 10 cepas de rabia aisladas en cerebro de ratón lactante, de las variantes de mayor circulación en nuestro país, 3 cerebros caninos expuestos a descomposición controlada y 14 cepas antiguas. La caracterización antigénica se realizó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta usando un panel de 19 anticuerpos monoclonales (CDC, USA). La caracterización molecular de una región de 159 nucleótidos correspondiente al gen de la nucleoproteína fue analizada y se confeccionó un árbol filogenético. La caracterización antigénica y molecular se correspondió en todos los aislamientos. En este estudio pudo efectuarse la caracterización molecular de los aislamientos de mayor circulación en Argentina, en muestras en avanzada descomposición y en cepas antiguas en forma directa, con una técnica que utiliza una pequeña porción del gen de la nucleoproteína viral en el 100% de las muestras.

PT.041 ANTIGENIC VARIANTS OF RABIES VIRUS IN VENEZUELA. 2000-2012

PEREZ M¹, HIDALGO M¹, BOYER L¹ – ¹National Institute of Agricultural Research (INIA) – Rabies Laboratory

Rabies is a fatal zoonotic disease, caused by the rabies virus, the prototype of the genus *Lyssavirus* of the *Rhabdoviridae* family, with a single-stranded negative-sense RNA genome, surrounded by a bullet shape capsid. In Venezuela for many years rabies has occurred in endemic and epidemic form, constituting a socioeconomic problem that affects human health and causes losses in livestock. It is distributed throughout the country. The detection of rabies antigen and antigenic characterization of field strains allowed the identification of animal species that serves as a reservoir responsible for an outbreak of rabies in a given area. The aim of this study was to perform the antigenic characterization of 34 fields isolates of rabies virus from different animal species, states and years, to know which antigenic variants were circulating in our country. The detection of rabies antigen was performed by direct immunofluorescence test of nerve tissue imprints of animals with symptoms of the disease. The viral amplification was performed by inoculation in suckling mice. Antigenic characterization was performed by indirect immunofluorescence impressions brains of mice inoculated with field strains that had obvious symptoms of the disease. Only variants 1 and 3 were found. It was concluded that the antigenic variant 1 (canine) was located exclusively in Zulia State, while variant 3 (vampire) was present in several states, so the common vampire bat *D. rotundus* was the main transmitter of rabies for livestock in that period. **Acknowledgement:** National Institute of Agricultural Research (INIA), National Institute of Integral Agricultural Health (INSAI). **Funding:** INIA. DeMattos C. OMS pg 30(1989). Hidalgo M. Rev. Fac. Cs Vets UCV 46:33. (2004) Hidalgo M. Rev. Fac. Cs. Vets. UCV. 49(2):121.(2008). Meslin FX WHO 476p (1996). Hidalgo M. Med.Vet al día. 1:19 (2011).

PT.042 EXPERIMENTAL ANTIVIRAL THERAPY AGAINST DIFFERENT RABIES VIRUS LINEAGES USING TRANSFECTION WITH ANTI-RABIES ANTIBODIES

Castilho JG¹, Batista HBCR¹, Rodrigues AC¹, Carnieli Jr P¹, Oliveira RN¹, Silva ACR², Caporale GMM², Carrieri ML¹, Kotait I¹, Brandão PE³ – ¹Instituto Pasteur – Virologia, ²Instituto Pasteur – Imunologia, ³Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

The aim of this study was to develop a new mechanism for antiviral therapy against rabies based on the introduction by transfection with a cationic reagent (lipofectamine 2000) of antibodies into neuronal cells infected with the rabies virus. N2A cells were infected using 96-well plates and different viral concentrations (0.1, 1.0, 10 and 100 TCID₅₀) of three lineages of rabies virus circulating in Brazil (dog, *Desmodus rotundus* and *Eptesicus furinalis*). After incubation for 24 h, the cells were transfected with antirabies- virus polyclonal antibodies and lipofectamine 2000. These cells made up the treatment group (TG). The cells in the negative control group (CG) were treated with only Minimum Essential Medium. After 11 hours, the plates were fixed with 80% acetone and analyzed by direct immunofluorescence using a fluorescein isothiocyanateconjugated antinucleocapsid rabies antibody. The effectiveness of the transfection and subsequent neutralization of the virus was determined by calculating the percentage inhibition of fluorescent foci. This was done by measuring the difference in the number of fluorescent foci in the two groups (CG and TG). The results show that for lower viral concentrations (0.1 and 1.0 TCID₅₀), viral inhibition was 100% for all the lineages tested. When higher virus concentrations were used (10 and 100 TCID₅₀), inhibition varied according to the viral load and lineage of rabies virus used. With an infectious dose of TCID₅₀, inhibition varied from 82.7% to 100% for the lineages tested. With a 100 TCID₅₀ dose, inhibition was 90.7% for the *D. rotundus* lineage, 90.3% for the dog lineage and 67.0% for the *E. furinalis* lineage. It can be concluded from these results that, irrespective of the viral load the patient is exposed to, transfection with antibodies is an efficient mechanism for use in antiviral therapy against rabies in cases where the transmitter is the hematophagous bat *D. rotundus* or the dog as inhibition only varied from 89.2% to 100% when these lineages were used. However, if the patient has been exposed to the lineage associated with the insectivorous bat *E. furinalis*, inhibition varies with viral load. These findings show that transfection with antibodies is a promising mechanism that could be used to develop an antiviral therapy against rabies. Further studies are required to assess the efficiency of transfection with antibodies *in vivo*. Financial Support: FAPESP

PT.043 CLASSIFICATION AND POSITIVITY RATE OF BATS RECEIVED FOR RABIES DIAGNOSIS

Lima JYO¹, Scheffer KC¹, Achkar SM¹, Kotait I¹, Carrieri ML¹ – ¹Instituto Pasteur

The diversity of bat species in Brazil is great, and there are 172 species distributed among nine families. The *Phyllostomidae* family is the most numerous, followed by *Vespertilionidae* and *Molossidae*. According to feeding habits, the majority of bats are insectivorous, followed by frugivorous, nectarivorous, carnivorous and hematophagous. As these animals are considered reservoirs of rabies virus it is essential to correctly identify the species and knowledge of the