

Perfil antigênico do vírus da raiva isolado de diferentes espécies de morcegos não hematófagos da Região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo

Antigen profile of rabies virus isolated from different species of non-hematophagous bats in the region of Presidente Prudente, State of São Paulo

Avelino Albas¹, Edson Aroldo Novaes de Souza¹, Rúbia Anzolin Lourenço¹,
Silvana Regina Favoretto² e Miriam Martos Sodré³

RESUMO

O Laboratório de Virologia Clínica e Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, utilizando-se da técnica de anticorpos monoclonais, tipificou 18 amostras de vírus rábico provenientes de morcegos não hematófagos de várias espécies provenientes da Região de Presidente Prudente, SP, Brasil. Destas amostras, 15 (82,3%) foram definidas como variante 3 (compatível com amostras isoladas de morcegos *Desmodus rotundus*) e 3 (16,7%) como variante 4 (compatível com amostras isoladas de morcegos *Tadarida brasiliensis*).

Palavras-chaves: Raiva. Anticorpos monoclonais. Tipificação antigênica. Morcegos.

ABSTRACT

Using the monoclonal antibody technique, the Clinical and Molecular Virology Laboratory of the Institute of Biomedical Sciences of the University of São Paulo typed 18 rabies virus samples from non-hematophagous bats of several species from the region of Presidente Prudente, SP, Brazil. Among these samples, 15 (82.3%) were defined as variant 3 (compatible with samples isolated from *Desmodus rotundus* bats) and three (16.7%) as variant 4 (compatible with samples isolated from *Tadarida brasiliensis* bats).

Key-words: Rabies. Monoclonal antibodies. Antigen typing. Bats.

Segundo dados da Organização Panamericana de Saúde (OPAS)¹⁴, os morcegos (hematófagos ou não) já ocupam o segundo lugar quanto à transmissão da raiva ao homem, sendo superados apenas pelos cães. Albas e cols¹ realizaram estudo da presença do vírus rábico na Região de Presidente Prudente, SP, no período de 1996 a 2003 e detectaram a presença de 74 amostras positivas, sendo que destas, 58 (78,4%) foram referentes a morcegos não hematófagos.

Há muitos anos que a Região de Presidente Prudente mantinha estado de zona silenciosa com relação à raiva, sem apresentar casos positivos da doença, seja em animais ou pessoas. Porém, uma mulher de 53 anos de idade no município de Dracena, veio a

óbito por raiva, com uma história epidemiológica de agressão por gato que havia tido contato com morcego. A tipificação antigênica resultou em variante 3 do *Desmodus rotundus* (morcego hematófago) que provavelmente, transmitiu o vírus a um morcego não hematófago, que por conseguinte, transmitiu ao gato, visto que esta variante tem sido isolada de inúmeras espécies envolvendo morcegos não hematófagos, cães, gatos e herbívoros¹².

Desde 1995, o laboratório do Pólo da Alta Sorocabana foi credenciado pelo Ministério da Saúde a fim de realizar o diagnóstico laboratorial da raiva para, aproximadamente, 53 municípios que compõem a 10ª Região Administrativa do Estado de São Paulo. Presidente Prudente é a sede administrativa dessa região, e geograficamente localiza-se a Sudoeste de São Paulo, latitude 22°07'04" e longitude 51°22'57".

Os estudos sobre a antigenicidade do vírus da raiva têm contribuído muito na vigilância epidemiológica e, neste sentido, vários pesquisadores têm feito novas descobertas utilizando-se do teste de anticorpos monoclonais, tanto na América Latina e Caribe^{4 5 19 22}, como no Brasil^{6 7 9 15 17}.

Portanto, neste trabalho, os autores tiveram como objetivo estudar o perfil antigênico do vírus rábico em diferentes espécies de morcegos não hematófagos que foram encaminhados ao

1. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Pólo da Alta Sorocabana, Presidente Prudente, SP. 2. Laboratório de Virologia Clínica e Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 3. Centro de Controle de Zoonoses, Prefeitura de São Paulo, SP.

Apoio financeiro: FAPESP, processo nº 05/59818-6

Endereço para correspondência: Dr. Avelino Albas. Rua Fernão Sales 555, 19570-000 Regente Feijó, SP.

Telefax: 55 18 3222-8688.

e-mail: avealbas@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 15/05/2008

Aceito em 03/02/2009

laboratório do Pólo da Alta Sorocabana para diagnóstico laboratorial cujos resultados foram positivos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras para exame e testes para diagnóstico laboratorial da raiva. As amostras para exame foram provenientes de morcegos não hematófagos encaminhados ao laboratório da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Pólo da Alta Sorocabana de Presidente Prudente, SP. Foram utilizados fragmentos do sistema nervoso central para o preparo de lâminas e inóculos. Para o diagnóstico laboratorial da raiva, empregou-se o teste de imunofluorescência direta, conforme descrito por Dean & Abelseth³ e a prova biológica (inoculação em camundongos) de acordo com o método preconizado por Koprowski¹¹, ambas as técnicas são recomendadas pela Organização Mundial da Saúde.

Caracterização antigênica. Foi utilizado um painel com oito anticorpos monoclonais anti-nucleoproteína fornecidos pelo CDC (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA), para tipificação antigênica das cepas de vírus rábico isoladas nas Américas. Cada Amostra foi testada frente a esse

painel pelo menos duas vezes, em lotes e dias diferentes para verificar a reprodutibilidade da caracterização^{5,6}.

Identificação e classificação das espécies de morcegos.

Utilizou-se algumas chaves dicotômicas onde as características externas e morfométricas de cada grupo são analisadas, tais como: tamanho de antebraço, cabeça-corpo, orelha, membrana interfemural, arcada dentária, cor de pelo, presença ou não de apêndice nasal e de outras estruturas que possam distinguir cada espécie^{8,13,20}.

RESULTADOS

Foram analisadas 18 amostras positivas para raiva, provenientes de morcegos não hematófagos, usando-se para tal, a técnica de anticorpos monoclonais. Destas, 15 (83,3%) foram definidas como variante 3 (compatível com amostras isoladas de morcegos *Desmodus rotundus*) e 3 (16,7%) como variante 4 (compatível com amostras isoladas de morcegos *Tadarida brasiliensis*). Quanto às espécies de morcegos positivas, houve predominância do gênero *Artibeus* com 13 amostras, representando 72,2% do total e todas elas foram portadoras da variante 3 (**Tabela 1**).

TABELA 1

Amostras de diferentes espécies de morcegos não hematófagos com diagnóstico laboratorial positivo para raiva. As respectivas variantes antigênicas do vírus rábico e os municípios da Região de Presidente Prudente que encaminharam as amostras para análise.

Amostra	Espécie de Morcego	Variante antigênica	Municípios (SP)
1	<i>Myotis nigricans</i>	4*	Paraguaçu Paulista
2	<i>Artibeus lituratus</i>	3**	Dracena
3	<i>Molossus rufus</i>	3	Paulicéia
4	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Teodoro Sampaio
5	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Martinópolis
6	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Dracena
7	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Dracena
8	<i>Artibeus fimbriatus</i>	3	Monte Castelo
9	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Álvares Machado
10	<i>Artibeus jamaicensis</i>	3	Tupi Paulista
11	<i>Molossus molossus</i>	4	Oswaldo Cruz
12	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Junqueirópolis
13	<i>Eptesicus furinalis</i>	4	Presidente Prudente
14	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Oswaldo Cruz
15	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Presidente Prudente
16	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Presidente Prudente
17	<i>Artibeus lituratus</i>	3	Dracena
18	<i>Lasiurus ega</i>	3	Dracena

*Variante 4 (compatível com amostras isoladas de morcegos não hematófagos *Tadarida brasiliensis*).

**Variante 3 (compatível com amostras isoladas de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus*).

DISCUSSÃO

Nos últimos anos, os casos de raiva em morcegos tem aumentado em São Paulo e outros estados do Brasil^{1,2,18,21} alertando os órgãos oficiais responsáveis pela vigilância epidemiológica para

possíveis riscos de contágio de animais e pessoas. A tipificação antigênica do vírus tem sido importante instrumento de controle desta doença.

Favoretto e cols⁶ realizaram tipificação antigênica de amostras brasileiras do vírus rábico isolado de animais e humanos

no período de 1989 a 2000 e detectaram maior variabilidade entre as amostras isoladas de morcegos insetívoros e a variante mais comum isolada entre as espécies foi a variante 3 (*Desmodus rotundus*), observação esta, que corrobora com os resultados encontrados na Região de Presidente Prudente.

A variante 3 tem sido identificada em várias espécies animais, principalmente cães, gatos e bovinos^{10 15 17}. Smith²⁰ recomenda especial atenção ao morcego *Desmodus rotundus* que mantém o vírus em espécies animais terrestres. No caso da morte de uma pessoa na Região de Presidente Prudente em 2001, após exaustiva investigação epidemiológica, concluiu-se que a vítima adquiriu a doença pela agressão de um gato, que deve ter adquirido o vírus de um morcego não hematófago, que por conseguinte deve ter adquirido do *Desmodus rotundus*, uma vez que a tipificação do vírus que vitimou a mulher foi da variante 3¹².

O estudo realizado na Região de Presidente Prudente identificou apenas a variante 3 (*Desmodus rotundus*) e variante 4 (*Tadarida brasiliensis*). Todas as amostras referentes ao gênero *Artibeus* foram portadoras da variante 3, resultado esse, que corrobora o encontrado por Delpietro e cols⁴. Foram analisadas somente amostras provenientes de morcegos não hematófagos porque representam a maioria absoluta de materiais encaminhados para diagnóstico laboratorial¹. Os resultados encontrados reforçam a necessidade dos órgãos responsáveis pelo controle da raiva na região concentrar esforços no sentido de encaminhar maior número possível de amostras para análise laboratorial, uma vez que, o vírus rábico se faz presente na região, principalmente em morcegos não hematófagos que têm contatos diretos com animais domésticos e pessoas, submetendo os mesmos ao risco de contágio.

REFERÊNCIAS

- Albas A, Zocolaro PT, Rosa TZ, Cunha SEM. Diagnóstico laboratorial da raiva na região oeste do Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38:493-495, 2005.
- Cunha EMS, Silva LHQ, Lara MCCSH, Nassar AFC, Albas A, Sodré MM, Pedro WA. Bat rabies in the north-northwestern regions of the State of São Paulo, Brazil: 1997-2002. *Revista Saúde Pública* 40:1082-1086, 2006.
- Dean DJ, Abelseth MK, Atanasiu P. The fluorescent antibody. *In: Meslin FX, Kaplan NM, Koprowski H (eds) Laboratory techniques in rabies: World Health Organization, Genebra, p.80-87, 1966.*
- Delpietro HA, Gury-Dhomen F, Larghi OP, Mena-Segura C, Abramo L. Monoclonal antibody characterization of rabies virus strains isolated in the River Plate Basin. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin* 44: 477-483, 1977.
- Diaz AM, Papo S, Rodriguez A, Smith JS. Antigenic analysis of rabies-virus isolates from Latin America and the Caribbean. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin B* 41:153-160, 1994.
- Favoretto SR, Carrieri ML, Cunha EMS, Aguiar EAC, Silva LHQ, Sodré MM, Souza MCAM, Kotait I. Antigenic typing of Brazilian rabies samples isolated from animals and humans, 1989-2000. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 44:91-95, 2002.
- Germano PML, Silva EV, Miguel O, Sureau P. Variantes antigenicas del virus de la rabia aisladas em el nordeste y sudeste del Brasil. *Estudio preliminar. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* 108:39-45, 1990.
- Gregorin R, Taddei VA. Chave Artificial para a Identificação de Molossídeos Brasileiros (Mammalia, Chiroptera). *Mastozoologia-Neotropical* 9:13-32, 2002.
- Hayashi Y, Mora E, Chandelier EL, Montano JÁ, Ohi M. Estudos de proteção cruzada de 24 cepas de vírus rábico isoladas de diferentes espécimes animais no Brasil. *Archive Biological Technology* 27: 27-35, 1984.
- Ito M, Arai YT, Ito T, Sakai T. Genetic characterization and geographic distribution of rabies viruses isolates in Brazil: Identification of two reservoirs, dogs and vampire bats. *Virology* 284:214-222, 2001.
- Koprowski H. Routine laboratory procedures: The mouse inoculation test. *In: Meslin FX, Kaplan NM, Koprowski H (eds) Laboratory techniques in rabies, 40th edition. World Health Organization, Genebra, p.88-96, 1966.*
- Kotait I. Past *In: Raiva humana causada pela variante 3 Desmodus rotundus. Instituto Pasteur, São Paulo* 7:3, 2003.
- Nowak RM (eds) Walker's Bats of the world. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, 2003
- Organizacion Panamericana de la Salud. Boletín: Vigilancia Epidemiologica de la Rabia en las Américas, v. XXXIII, 2001.
- Roehle PM, Cunha AC, Rodrigues RR, Gonçalves AR, Ribeiro CLG. Diagnóstico laboratorial da raiva no Rio Grande do Sul, Brasil. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, p. 102, 1987.
- Rosa ET, Kotait I, Barbosa TFS, Carrieri ML, Brandão PE, Pinheiro AS, Begot AL, Wada MY, Oliveira RC, Grisard EC, Ferreira M, Lima RJS, Montebello L, Medeiros DBA, Sousa RCM, Bensabath G, Carmo EH, Vasconcelos PFC. Bat-transmitted human rabies outbreaks, Brazilian Amazon. *Emerging Infectious Diseases* 12:1197-1202, 2006
- Sacramento DRV, Tordo N, Kotait I. Estudo molecular do vírus da raiva isolado no Estado de São Paulo. *In: Anais da 7ª Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo, p.15, r.029, 1994.*
- Scheffer KC, Carrieri ML, Albas A, Santos HCP, Kotait I, Ito FH. Vírus da raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Saúde Pública* 41:389-395, 2007.
- Smith JS. Monoclonal antibody studies of rabies in insectivorous bats of the United States. *Review Infectious Disiases* 10:S637-S643, 1988.
- Taddei VA. Sistemática de Quirópteros. *Boletim do Instituto Pasteur, São Paulo* 1:3-15, 1996.
- Uieda W, Hayashi NM, Gomes LH, Silva MMS. Espécies de quirópteros diagnosticadas com raiva no Brasil. *Boletim do Instituto Pasteur, nº 1, p.17-36, 1996.*
- Wiktor TJ, Koprowski H. Antigenic variants of rabies virus. *Journal Experience Medicine* 152:99-112, 1980.