

CARACTERIZAÇÃO DE VARIANTES NO BRASIL E PAÍSES VIZINHOS.

Favoretto, S.R.¹; De Mattos, C.C.²; Carrieri, M.L.¹; De Mattos, C.A.²; Cunha, E.M.S.³; Aguiar, E.A.C.⁴; Silva, L.H.Q.⁵; Sodré, M.M.S.⁴; Souza, M.C.A.M.³; Kotait, I.¹.

¹ Instituto Pasteur de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

² CDC – Atlanta – USA

³ Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Centro de Controle de Zoonoses, São Paulo, SP, Brasil.

⁵ Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, SP, Brasil.

Enquanto a incidência de raiva transmitida por animais domésticos, principalmente cães, diminuiu no Brasil e outros países das Américas, está aumentando visivelmente o número de casos de raiva transmitidos por morcegos, seguido de outros animais silvestres.

Dados do Ministério da Saúde mostram que no Brasil, nos últimos 10 anos, aproximadamente 15% dos casos de raiva em humanos foram transmitidos por morcegos. A vigilância epidemiológica mostrou até então que a raiva ocorre em duas formas distintas, classificadas como urbana, tendo o cão como principal animal transmissor e a silvestre com diferentes espécies de animais tidos como reservatórios ou transmissores, variando de acordo com a região considerada.

Assim como os dados epidemiológicos de campo, o conhecimento da variante antigênica envolvida é de extrema importância nos estudos que envolvem diferentes ciclos da raiva.

A necessidade de saber mais sobre estes ciclos e a possível inter-relação entre eles, nas diferentes regiões, nos levou ao estudo que mostra os resultados obtidos a partir da tipificação antigênica e genética realizada em amostras de vírus rábico isoladas de humanos, animais domésticos, morcegos e alguns outros animais silvestres no Brasil, Paraguai e Bolívia, isoladas no período de 1989 a julho de 2000.

Foram estudadas 296 cepas, sendo 101 isoladas de cães, 12 de gatos, 32 de bovinos, 21 de eqüídeos, 88 de morcegos, 30 de humanos, 6 de ovinos, 1 de caprino, 1 de suíno, 1 de raposa, 1 de quati, 1 de macaco e 1 de sagüi, além das cepas de vírus fixo PV mantidas em células BHK-21 e CVS-32 mantidas em cérebros de camundongos.

Todas foram caracterizadas antigenicamente no Instituto Pasteur de São Paulo, Brasil, através do teste de imunofluorescência indireta com a utilização de um painel de anticorpos monoclonais antinucleocapsídeo viral, fornecido pelo Center for Disease Control and Prevention-CDC, Atlanta, Georgia, EUA, pré-estabelecido pela Organização Panamericana da Saúde-OPAS, para estudos da epidemiologia molecular do vírus rábico nas Américas; sendo que 84 destas também foram identificadas geneticamente no CDC, através do sequenciamento de fragmento do gene da nucleoproteína viral, seguido da comparação filogenética com variantes de vírus rábico anteriormente descritas nas demais regiões estudadas.

Além das seis variantes previamente descritas no painel utilizado, outros cinco perfis diferentes, não compatíveis com os pré-estabelecidos puderam ser observados.

No Brasil, nas diferentes espécies estudadas, foi encontrada a variante-3, característica de *Desmodus rotundus*, em 8 (10,0%) dos cães; 3 (27,2%) dos gatos; 3 (11,1%) dos humanos; 1 (100%) dos caprinos; 5 (80%) dos ovinos; 21 (100%) dos eqüídeos; 27(100%) dos bovinos; além de 34 (100%) dos morcegos hematófagos e 32 (59,25%) dos morcegos não hematófagos. Pudemos, ainda, observar o isolamento de uma variante antigênica distinta, semelhante antigenicamente à variante 5 descrita no painel, que além de isolada em várias espécies de morcegos insetívoros foi também encontrada em um gato procedente do interior do estado de São Paulo.

Das amostras isoladas de morcegos, 34 eram de *Desmodus rotundus*, 22 de morcegos fitófagos das espécies *Artibeus lituratus* e *Artibeus planirostris*; 32 eram de espécies

insetívoras como *Myotis nigricans*, *Myotis albecens*, *Molossus ater*, *Molossus molossus*, *Nyctinomops laticaudatus*, *Nyctinomops macrotis*, *Eumops auripendulus*, *Epitesicus diminutus*, *Lasiurus borealis*, *Lasiurus ega*, *Lasiurus cinereus*, *Tadarida brasiliensis*, *Histiotus velatus*, *Epitesicus furinalis*, *Molossus abrasus* e uma de um morcego não hematófago que não pode ser identificado. Destes morcegos, 15% eram provenientes de área silvestre e 85% de área urbana, alguns foram obtidos em programas de captura mas a maioria está relacionada a contatos acidentais com humanos ou animais, ou simplesmente encontrados em locais e hora diferentes do habitual.

Todos os morcegos hematófagos apresentaram a variante antigênica 3, característica de *Desmodus rotundus*, sendo que em seis destes foi realizada, também, a caracterização genética. Quanto às demais espécies, no grupo dos frugívoros foram encontradas as variantes 3 (*Desmodus rotundus*) e 4 (*Tadarida brasiliensis*), o que pode ser, também, observado na avaliação genética em 15 destes casos; ficando a maior diversidade para o grupo dos insetívoros, onde pudemos detectar quatro perfis antigênicos não compatíveis com os já previstos no painel utilizado, além das variantes 3 (*Desmodus rotundus*), 4 (*Tadarida brasiliensis*) e 6 (*Lasiurus cinereus*).

Destes perfis antigênicos desconhecidos, referentes às amostras isoladas de diversas espécies diferentes, pudemos observar que eles não apresentam relacionamento com nenhuma das demais amostras pertencentes deste estudo, quando submetidos à avaliação genética, frente a outras amostras de morcegos do Brasil e outras regiões, segregando ramos distintos na árvore filogenética, o que pode ser representativo de outras variantes genéticas mantidas em ciclos endêmicos independentes, em morcegos insetívoros de espécies desconhecidas. Estes mesmos perfis antigênicos puderam ser observados mais de uma vez em espécies diferentes, algumas vezes procedentes de uma mesma região.

A variante 3, uma vez observada nos isolamentos procedentes de sete das 17 espécies diferentes de morcegos não hematófagos demonstra, assim, a sua importância como reservatório natural do vírus rábico em nosso meio, sugerindo que o morcego hematófago *Desmodus rotundus* desempenha importante papel tanto na raiva silvestre, como também, em ambientes urbanos. Durante o estudo pudemos observar a variante 3 isolada de animais domésticos procedentes de uma área onde foi detectado foco de raiva urbana, circulando ao mesmo tempo com a variante 2, característica de raiva mantida por cães. Em outro caso, a variante 3 que pode ser isolada de glândula salivar de um gato de área urbana, apresentou títulos elevados quando inoculada por vias intracerebral ou intramuscular em camundongos recém desmamados.

Quanto às amostras isoladas de outros animais silvestres, todos da região nordeste do Brasil, da amostra isolada de quati foi verificada afinidade aos oito anticorpos monoclonais utilizados, já a raposa, mostrou a variante antigênica 2, cão. Na avaliação genética, ambas segregam com isolamentos de cepas de ciclo terrestre no Brasil, compatíveis com a variante 2, cão. Porém, em sagüi, pudemos identificar uma variante desconhecida, mesmo quando comparada com variantes isoladas em outras regiões dos diferentes continentes. Esta mesma variante foi também encontrada em 2 humanos, assim como ela, procedentes da mesma região do país.

Das amostras isoladas no Paraguai, foram verificadas as variantes 2, em animais domésticos como cães e gatos, e a variante 3, em bovino. Nas amostras provenientes da Bolívia, somente pudemos identificar a variante 1, cão, isolada de cães, gatos, humano, bovino, equino e até símio, diferentemente do Brasil e Paraguai, onde o ciclo terrestre foi caracterizado pela variante 2, cão. Com base nestes estudos, julgamos oportuno a adoção de ações de Vigilância Epidemiológica para o conhecimento da raiva silvestre em nosso meio, ações estas que deverão ser desenvolvidas em cooperação com Instituições ligadas ao meio ambiente.