

## A PESQUISA DO VÍRUS DA RAIVA NA GLÂNDULA INTER-ESCAPULAR DE MORCEGOS DO BRASIL EM CONDIÇÕES NATURAIS DE INFECÇÃO<sup>1</sup>

RENATO AUGUSTO DA SILVA<sup>2</sup> e ARY MOREIRA DE SOUZA<sup>3</sup>

### Sinopse

Isolou-se o vírus rábico de emulsões de glândulas inter-escapulares de cinco *Desmodus rotundus*, por inoculação intracraniana em camundongos, de um total de 72 morcegos de diferentes espécies. Daqueles cinco exemplares, somente conseguiu-se isolar o vírus rábico de dois cérebros, tendo sido negativas as tentativas de isolamento dos três outros cérebros.

As amostras de vírus isoladas das glândulas inter-escapulares e dos cérebros foram identificadas como vírus rábico, pela presença de corpúsculos de Negri no citoplasma das células nervosas dos cérebros dos camundongos inoculados e pela prova de soro neutralização realizada com uma das amostras, utilizando-se um soro anti-rábico de conhecida capacidade neutralizante.

Neste trabalho de experimentação utilizaram-se além da espécie *Desmodus rotundus*, outras como: *Carollia* sp., *Phyllostomus hastatus*, *Molossus rufus*, *Molossus temminckii* e *Diphylla ecaudata* as quais revelaram resultados negativos nas inoculações de glândulas inter-escapulares e de cérebro.

### INTRODUÇÃO

A presença de vírus rábico na glândula inter-escapular de morcegos e a multiplicação deste vírus no tecido adiposo foram observadas pela primeira vez por Sulkin *et al.* (1957) em condições experimentais, ao infectarem morcegos insetívoros *Tadarida brasiliensis mexicana* e *Myotis lucifugus* com amostra de vírus da raiva de origem humana. Posteriormente, Bell *et al.* (1962) demonstraram a ocorrência de vírus rábico na glândula inter-escapular de morcegos insetívoros e frugívoros naturalmente infectados, Villa *et al.* (1963) isolaram vírus da raiva de glândulas inter-escapulares de *Artibeus lituratus palmarum* e *Macrotus mexicanus* e Girard *et al.* (1965) isolaram vírus rábico da citada glândula de morcegos insetívoros.

Tendo em vista as pesquisas realizadas nos Estados Unidos da América e no México, orientamos os nossos trabalhos no sentido de demonstrar a presença

de vírus da raiva na glândula inter-escapular de morcegos do Brasil, constituindo a presente notificação, o resultado dos nossos trabalhos, que evidenciam com clareza a presença do vírus da raiva na glândula em questão, de morcegos *Desmodus rotundus* em condições naturais.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os morcegos que deram origem ao presente trabalho foram capturados em furnas, bueiros de estradas de rodagem, fôrros de igrejas e casas residenciais nos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Minas Gerais, com exceção de um *Desmodus rotundus* (Material 3.666), apanhado em pleno dia sobre uma vaca no Município de Pirapetinga, Estado de Minas Gerais. Nestes Estados a raiva ocorre entre os herbívoros causando há algum tempo sérios prejuízos à pecuária.

Os exemplares de morcegos em um total de 72, podem ser assim distribuídos pelas espécies: 48 *Desmodus rotundus*, 5 *Diphylla ecaudata*; 3 *Carollia*; 9 *Phyllostomus hastatus hastatus*; 6 *Molossus rufus* e 1 *Molossus temminckii*. No Quadro 1 estão discriminados a procedência e tipo de habitação onde foram capturados os exemplares, como também, o número do registro na Seção de Vírus do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul, a data de inoculação, espécie e número de glândulas.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 11 de agosto de 1967. Boletim Técnico n.º 58 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

<sup>2</sup> Veterinário e Chefe da Seção de Zoonoses por Vírus do IPEACS, e Professor Adjunto da Cadeira de Microbiologia e Imunologia, Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26.

<sup>3</sup> Veterinário da Seção de Zoonoses por Vírus do IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26.

Os morcegos, após a captura, foram colocados em sacos plásticos e acondicionados em caixas térmicas refrigeradas e posteriormente encaminhados à Seção de Vírus. Procedemos inicialmente à coleta das glândulas inter-escapulares e do cérebro de cada morcego, com exceção do morcego capturado de dia, cujos órgãos foram todos coletados e guardados em temperatura de menos 20°C para utilização posterior; os demais morcegos foram também conservados nesta temperatura.

Preparamos emulsões a 10% de cérebro e glândulas inter-escapulares dos morcegos recebidos, tendo o

Realizamos ainda a prova de soro-neutralização com uma das amostras de vírus isoladas de glândula inter-escapular (Material 3.679, Ficha 8.369), utilizando um soro anti-rábico padrão. Na execução desta prova seguimos a técnica descrita em trabalho anterior (Silva & Souza 1966).

## RESULTADOS

Os resultados das inoculações em camundongos são apresentados no Quadro 1. Das 13 emulsões de glândulas inter-escapulares correspondentes aos morce-

QUADRO 1. Resumo dos trabalhos realizados com glândulas inter-escapulares de várias espécies de morcegos do Brasil

N.º de registro	Data da inoculação	Procedência		Espécie	N.º de glândulas inoculadas	Tipo de habitação	Resultados	
		Estado	Município				Positivos	Negativos
3554/55	23.1.67	Rio de Janeiro	Itaguaí	<i>Phyllostomus hastatus</i>	2	Fôrro de igreja	—	2
3557	26.1.67	» » »	»	»	1	» » »	—	1
3558/59	31.1.67	» » »	»	»	2	» » »	—	2
3561/62	1.2.67	» » »	»	»	2	» » »	—	2
3572	2.2.67	» » »	»	»	1	» » »	—	1
3573	2.2.67	» » »	»	<i>Molossus rufus</i>	1	Fôrro de casa	—	1
3574/75	2.2.67	» » »	»	»	2	» » »	—	2
3577/78	3.2.67	» » »	»	»	2	» » »	—	2
3580	9.2.67	» » »	»	»	1	» » »	—	1
3581	9.2.67	» » »	»	<i>Molossus temminckii</i>	1	» » »	—	1
3584	16.2.67	» » »	Bom Jesus de Itabapoana	<i>Desmodus rotundus</i>	13	Bueiro de estrada de rodagem	2	11
3597	8.3.67	» » »	Itaguaí	<i>Phyllostomus hastatus</i>	1	Fôrro de igreja	—	1
3602/03	21.3.67	» » »	»	<i>Diphylla ecaudata</i>	2	Furna	—	2
3606/08	28.3.67	Espírito Santo	Bom Jesus do Norte	<i>Desmodus rotundus</i>	3	»	—	2
3600/10	28.3.67	» » »	»	»	2	Furna	—	2
3612/11	28.3.67	» » »	Bom Jesus do Norte	<i>Carollia</i>	3	Bueiro de estrada de rodagem	—	3
36 15/16	28.3.67	» » »	Vitória	<i>Desmodus rotundus</i>	2	Furna	—	2
3617	28.3.67	» » »	Cachoeira do Itapemirim	<i>Diphylla ecaudata</i>	1	»	—	1
3619/20	28.3.67	Rio de Janeiro	Bom Jesus de Itabapoana	»	2	»	—	2
3606*	18.4.67	Minas Gerais	Pirapitinga	<i>Desmodus rotundus</i>	1	Sobre o dorso de uma vaca	1	—
3671/	28.4.67	Rio de Janeiro	Itaguaí	»	9	Furna	—	9
3675/92	10.5.67	Minas Gerais	Recreio	»	18	»	2	16

\* Isolamento do vírus rábico de vários tecidos.

cuidado de lavar os tecidos pelo menos três vezes em soro fisiológico estéril. As diferentes emulsões foram tratadas com 1.000 U.I. de penicilina potássica e um miligrama de estreptomomicina sódica por ml. A seguir centrifugamos as emulsões por 10 minutos a 2.500 rpm e com os sobrenadantes obtidos, inoculamos lote de oito camundongos de 5 ou de 21 dias de idade, pela via intracraniana, na dose de 0,03 ml, pois não dispunhamos de animais da mesma idade para todas as emulsões.

Observamos os animais inoculados por um período de 21 dias.

Para a pesquisa de corpúsculos de Negri nos cérebros dos camundongos que exibiam sintomas ou que morriam após 7 dias da inoculação, utilizamos a técnica de Faraco (Bier 1961).

gos capturados no Município de Bom Jesus de Itabapoana, Estado do Rio de Janeiro, inoculadas em camundongos de 5 dias de idade, duas determinaram o aparecimento de sintomas de raiva, no período de 8 a 11 dias em dois camundongos. Os demais camundongos inoculados mostraram-se normais pelo período de observação de 21 dias.

A emulsão de glândula inter-escapular correspondente ao morcego capturado no Município de Pirapitinga, morcego este que apresentava sintomas de raiva, inoculada em camundongos de 5 dias, determinou o aparecimento dos mesmos sintomas em três camundongos no período de 10 a 13 dias. Os demais camundongos mostraram-se normais pelo período de 30 dias de observação.

Das 18 emulsões de glândulas inter-escapulares dos morcegos *Desmodus rotundus*, capturados no Município de Recreio, Estado de Minas Gerais, inoculadas em camundongos de 21 dias de idade, uma determinou no 11.º dia o aparecimento de sintomas de raiva (Ficha 8.369). Já com outra emulsão (Material 3.680, Ficha 8.370), um camundongo morre sem apresentar sintomas no 9.º dia, sendo desprezado. No 21.º dia morre outro camundongo, sendo o cérebro coletado para nova passagem e pesquisa, demonstrando os esfregaços realizados a presença de inúmeros corpúsculos de Negri.

Da emulsão de glândula inter-escapular, referente ao morcego *D. rotundus* (Material 3.666), capturado no Município de Pirapitinga, Estado de Minas Gerais, inoculada em camundongos de 5 dias de idade, isolamos o vírus da raiva com incubação de 10 dias (Ficha 8.240).

Das emulsões de cérebro inoculadas em camundongos de 21 dias de idade, correspondentes a cada morcego, foi isolado vírus rábico do cérebro do morcego capturado no Município de Pirapitinga (Material 3.666) e do morcego capturado no Município de Recreio (Material 3.679), resultando negativas as emulsões de cérebros correspondentes aos demais morcegos.

Tanto os cérebros dos camundongos que apresentaram como os dos que não apresentaram sintomas de doença, correspondentes ao material 3.680, quando submetidos à técnica de Faraco, mostraram a presença de inúmeros corpúsculos de Negri.

A amostra de vírus isolada de glândula inter-escapular correspondente ao material 3.679 (Ficha 8.369) foi neutralizada pelo soro padrão revelando um índice acima de 1.000 DL<sub>50</sub> (Título de vírus + soro normal 10<sup>-4.0</sup>, título de vírus + soro padrão <10<sup>-1.0</sup>).

### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A pesquisa do vírus da raiva na glândula inter-escapular de morcegos das espécies *Desmodus rotundus*, *Carollia*, *Phyllostomus hastatus hastatus*, *Diphylla ecaudata*, *Molossus rufus* e *Molossus temminckii*, resul-

tuou positiva para os morcegos da espécie *Desmodus rotundus*. De 48 *D. rotundus*, isolamos vírus rábico das glândulas inter-escapulares de cinco exemplares (10,4%) sendo que de dois deles, o vírus foi ainda isolado do cérebro. Este fato, relacionado com o isolamento do vírus da glândula inter-escapular, quando o cérebro mostra ausência de vírus, é interessante para se confrontar com os resultados obtidos por Bell *et al.* (1962), que não conseguiram isolar vírus da glândula inter-escapular quando este estava ausente no cérebro ou nas glândulas salivares.

O nosso trabalho de isolamento de vírus rábico das glândulas inter-escapulares de morcegos *D. rotundus* naturalmente infectados coincide com os de Bell (1962), Girard *et al.* (1965) e de Villa *et al.* (1963).

Identificamos as amostras de vírus isoladas pela presença de inúmeros corpúsculos de Negri no citoplasma das células nervosas dos camundongos examinados e por prova de soro neutralização realizada com uma dessas amostras.

### AGRADECIMENTOS

Consignamos no presente trabalho os nossos agradecimentos aos Drs. Odon Antão de Alencar e Ildelfonso Bastos Borges pelos morcegos capturados nos Municípios de Recreio e Pirapitinga, Estado de Minas Gerais, e Bom Jesus de Itabapoana, Estado do Rio de Janeiro. Igualmente, agradecemos aos Laboratoristas da Seção de Vírus, Srs. Argemiro Lourenço e Adhemar Lourenço pela dedicação durante o desenvolvimento do trabalho.

### REFERÊNCIAS

- Bell, J. F., Moore, G. T., Raymond, G. H. & Tibbs, C. E. 1962. Characteristics of rabies in bats in Montana. *Am. J. Publ. Health* 52: 1293-1301.
- Bier, O. 1961. *Bacteriologia e imunologia*. 10.ª ed. Edições Melhoramentos, São Paulo, p. 821-822.
- Girard, K. F., Hitchcock, H. B., Edsall, G. & Mac Gready, R. A. 1965. Rabies in bats in southern New England. *New Engl. J. Med.* 272 (2): 75-80.
- Silva, R. A. da & Souza, A. M. de 1966. Aislamiento de virus rábico del pulmón, corazón, riñón, vejiga y otros diferentes tejidos de murciélagos hematófagos de la especie *Desmodus rotundus*. V Congr. Panam. Med. Vet. y Zootec., Caracas, Venezuela.
- Sulkin, S. E., Krutzsch, H. P., Wallis, C. & Allen, R. 1957. Role of brown fat in pathogenesis of rabies in insectivorous bats (*Tadarida b. mexicana*). *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.* 96 (2): 461-464.
- Villa, B. R., Alvarez, B. L. & Dominguez, C. C. 1963. Presencia y persistencia del virus de la rabia en la glândula inter-escapular de algunos murciélagos mejicanos. *Ciencia* 22 (5): 137-140.

### THE RABIES VIRUS RESEARCH IN THE INTER-SCAPULAR GLANDS (BROWN-FAT) OF NATURALLY INFECTED BATS

#### Abstract

Among 48 hematophagous bats *Desmodus rotundus*, rabies virus was isolated from the inter-scapular gland emulsions (brown-fat) of five of these bats (10,4%) by intracerebral mice inoculation. The brain emulsions of two of these bats also gave positive results.

The virus strains isolated were determined by the appearance of Negri bodies in the cytoplasm of the nerve cells by microscopic examination of the inoculated brains of mice.

The neutralization test employed with one of these strains presented a high titer of neutralization. During the experimentation other species of bats (*Carollia* sp., *Phyllostomus hastatus*, *Molossus rufus*, *Molossus temminckii* and *Diphylla ecaudata*) were studied and revealed negative results.