

ASPECTOS DA PATOGENIA E DA RELAÇÃO IMUNOLÓGICA DE UMA
AMOSTRA DE VÍRUS RÁBICO, ISOLADA DE MORCEGO HEMATÓFAGO DA
ESPÉCIE *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy, 1810)¹

Renato Augusto da Silva²

RESUMO. — Consistiu o presente trabalho no isolamento e na identificação de uma amostra de vírus da raiva, isolada de morcego hematófago, *Desmodus rotundus rotundus*, proveniente do município de Blumenau, no Estado de Santa Catarina.

Estudaram-se as características patogênicas da amostra do vírus, denominada IPEACS — 1.661, em camundongos e bovinos e, também, as características imunológicas, avaliadas pelas provas de soro-neutralização, imunofluorescência e imunidade cruzada. Esta amostra vem sendo utilizada desde o ano de 1961, nos testes de avaliação da imunidade conferida pelas vacinas anti-rábicas em cobaias e bovinos, encontrando-se atualmente com 43 passagens intra-cerebrais em camundongos. A amostra, após variadas passagens, apresenta ainda propriedades de vírus das ruas, com formação de corpúsculos de Negri nos neurônios e multiplicação nas glândulas salivares.

Termos para indexação: Raiva.

INTRODUÇÃO

Desde a hipótese inicial de Carini (1911), de que os morcegos transmitiam a raiva aos bovinos e eqüinos do Estado de Santa Catarina, os pesquisadores em raiva empenharam-se em isolar o vírus desta espécie de mamíferos e de outros animais silvestres relacionados com os focos da doença.

Rehaag (1916) confirmou a hipótese inicial de Carini, isolando, pela primeira vez no mundo, o vírus rábico de morcego, ao inocular substância medular em coelhos e cobaias. Tais experiências foram feitas com material proveniente de 2 morcegos, mas só em um foi provado o diagnóstico "raiva". O morcego era um *Phyllostomus superciliatum* classificado, segundo Brumeister, "Saeugetiere", (Berlim, 1854, casa editora: Georg Reimer). Foi preso, quando estava mordendo uma novilha, no dia 19 de julho, às 8 horas, num estábulo do Vale de Warnow, onde reinava a epizootia há 2 1/2 meses. Com uma emulsão de bulbo deste morcego foram inoculados por via intramuscular um coelho e uma cobaia". Seguiram-se os trabalhos de Sylvio Tôrres e Queiroz Lima (1935), com os isolamentos de ví-

rus rábico de morcegos hematófagos, da espécie *Desmodus rotundus rotundus*, concluindo, estes autores, que: "nos focos de raiva epizootica e fora deles são encontrados morcegos hematófagos portadores de vírus rábico".

Alguns morcegos hematófagos desenvolvem uma infecção leve ou latente com recuperação e passam a uma fase de portador. Os morcegos afetados deste modo podem viver por períodos longos, conforme demonstraram Sylvio Tôrres e Queiroz Lima (1935) e em algumas ocasiões sofrem ataques convulsivos com espasmos clônicos, perda da consciência e finalmente recuperação. Outros, muito resistentes à infecção, não apresentaram sintomas clínicos, porém foram capazes de transmitir a doença.

Nas áreas enzoóticas de raiva nos Estados Unidos (1962), cerca de 4% das raposas aparentemente sadias apresentaram títulos de anticorpos neutralizantes e 40% dos morcegos de cauda livre também apresentaram anticorpos neutralizantes, demonstrando desta forma a larga disseminação da infecção nestas áreas.

As amostras de vírus rábico, isoladas de cães, morcegos hematófagos, seres humanos e bovinos infectados por morcegos hematófagos, demonstraram serem antigenicamente idênticas a todas as amostras conhecidas de vírus rábicos. O vírus isolado de morcego é neutralizado com o soro anti-rábico padrão, e os antígenos preparados com amostras isoladas de morcegos hematófagos em provas de imunidade cruzada dão proteção a animais de laboratório e ao gado, exposto em forma experimental

¹ Aceito para publicação em 25 de abril de 1977.

Tese aprovada no concurso à Livre-Docência da UFRRJ, na disciplina de Virologia, do Departamento de Biologia, do Instituto de Biologia, Dezembro de 1976.

² Veterinário do GEPA-RJ. Ministério da Agricultura. Professor-Adjunto do Departamento de Biologia Vegetal, do Instituto de Biologia, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

ou natural. Alguns investigadores, como Kubes e Gallia (1942), Briceno Rossi (1945), Tellez Giron (1945) e Munõz D'Avila (1959), assinalaram pequenas diferenças quantitativas nas provas de imunidade cruzada e falam da pluralidade do vírus rábico, e recentemente a WHO (1973) demonstrou que o vírus rábico clássico e vários vírus isolados do Continente Africano contêm um antígeno comum núcleo-protéico, que pode ser detectado pela imunofluorescência, fixação de complemento, e técnicas de precipitação. Estas amostras diferem significativamente, entretanto, quando testadas pela soro-neutralização e técnicas de proteção cruzada, indicando que as proteínas da membrana são diferentes. Com base nestes achados, estes vírus podem ser classificados como pertencentes ao grupo rábico de rhabdovírus e com os seguintes sorotipos: *sorotipo 1*: protótipo amostra CVS, incluindo a maioria das amostras de campo e de laboratório de diferentes partes do mundo e o vírus isolado de roedores de áreas da Europa Central; *sorotipo 2*: protótipo amostra Lagos Bat, isolada de uma mistura de cérebro de morcegos frugívoros da Nigéria; *sorotipo 3*: amostra-protótipo Mokola, isolada, em várias ocasiões, de Mussaranho (mamífero insetívoro) e do homem; *sorotipo 4*: amostras ainda não classificadas, isoladas de cavalo na Nigéria, e de *Culicoides spp.* e *Mansonia uniformis* (mosquitos).

No presente trabalho, estudamos alguns aspectos da patogenia para camundongos e bovinos, e da relação imunológica de uma amostra de vírus rábico, isolada de morcego *Desmodus rotundus rotundus*.

MATERIAL E MÉTODOS

O morcego que deu margem à realização do presente trabalho foi classificado como pertencente à espécie *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy 1810). Dito animal foi abatido em pleno dia (7 de abril de 1959), no Município de Blumenau, no Estado de Santa Catarina, quando procurava sugar um bovino, sendo o seu cérebro coletado e conservado em glicerina para posterior remessa à Seção de Virologia do extinto Instituto de Biologia Animal, pelo Chefe da Inspeção Regional da Divisão de Defesa Sanitária Animal em Florianópolis, Dr. Irapuan Campello Bessa. O material chegou às nossas mãos no dia 23.4.59, sendo registrado sob o número IPEACS-1.661 no livro da Seção de Virologia, do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul.

Isolamento do vírus

Preparo do inóculo: com o cérebro do morcego conservado em glicerina, realizou-se suspensão a 10% em soro fisiológico estéril a 8,5 por mil, tendo-se o cuidado de lavar várias vezes o tecido nervoso em soro fisiológico a fim de eliminar ao máximo a glicerina. Adicionaram-se, à suspensão, 1.000 U.I. de penicilina potássica e um miligrama de dihidro-estreptomicina por ml. Em seguida, a suspensão assim preparada foi centrifugada, em aparelho refrigerado, por 10 minutos, a 2.500 rpm.

Com o sobrenadante obtido, inoculou-se lote de 15 camundongos brancos, de 15 gramas, pela via intracerebral, na dose de 0,03 ml, observando-se diariamente os animais, pelo período de 120 dias.

Com os cérebros dos camundongos que exibiam sintomas nervosos, realizaram-se novas suspensões, seguindo-se a técnica anteriormente descrita, e novas inoculações em camundongos, o que constituía a segunda passagem da amostra de vírus recém-isolada. Passagens subseqüentes foram realizadas e amostras do vírus foram tituladas em determinados intervalos das passagens, calculando-se a DL₅₀ pelo método de Reed-Muench (1938).

Titulação da amostra IPEACS 1.661. A fim de saber o título infeccioso da amostra, foram realizadas titulações de diferentes passagens em camundongos. Para tal fim, pesava-se 1 grama de tecido nervoso correspondente a cada passagem do vírus em camundongos, macerava-se em gral, adicionando-se 9 ml de soro fisiológico, para obter-se a diluição a 1:10 e, a partir desta diluição, preparavam-se diluições décuplas da suspensão de vírus. Em uma série de tubos de ensaio, distribuía-se 4,5 ml de diluente, colocando-se a estante com os tubos em bandeja com água e gelo. Com pipeta de 1 ml, dividida em centésimos, transferia-se 0,5 ml da diluição a 1:10, para um tubo com 4,5 ml de diluente, obtendo-se uma diluição 10 vezes maior ($10^{-2,0}$) e, assim, sucessivamente até a última diluição desejada, em geral $10^{-7,0}$.

Inoculavam-se grupos de 5 camundongos para cada diluição, desde as diluições $10^{-7,0}$ até de $10^{-1,0}$, na dose de 0,03 ml por camundongo, intracerebralmente.

Os animais ficavam em observação diária durante 15 dias, registrando-se o aparecimento dos sintomas de raiva e morte dos animais. O título de virulência da amostra nas diversas passagens era calculado pelo método de Reed-Muench (1938), que dava a dose letal em 50% de mortalidade.

Identificação do vírus

Na realização da identificação do vírus isolado, utilizaram-se as seguintes provas: exame histoquímico, prova de soro-neutralização, imunofluorescência e imunidade cruzada.

Exame histoquímico: com os cérebros dos camundongos sacrificados na fase paráltica, procedeu-se à realização da técnica de Faraco (1938), que em linhas gerais consistia em se fazer esfregaços entre 2 lâminas do tecido nervoso previamente tratado pelo formol e macerado pela amônia secar rapidamente ao ar, fixar pelo fixador de Heidenhein, lavar e corar pelo corante de Mann, diferenciar soluções de álcool alcalino e álcool ácido e montar em bálsamo, fazendo-se a leitura em microscópio comum, marca "Wild".

Prova de Soro-neutralização:

Amostra de vírus: utilizaram-se cérebros de camundongos contendo 7 passagens intracerebrais.

Soro: empregou-se um soro imune, com alto teor de anticorpos, para o vírus rábico fixo, amostra "Pasteur", proveniente do Instituto Butantan, e um soro de cavalo, livre de anticorpos, para o vírus rábico.

Animais: utilizaram-se camundongos suíços, brancos, provenientes do biotério do extinto Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Centro-Sul.

Técnica: a prova consistiu em se colocarem partes iguais das diluições de vírus, que variaram de $10^{-6,0}$ a $10^{-3,0}$, para o soro negativo de cavalo, e de $10^{-5,0}$ a $10^{-1,0}$, para o soro-padrão, em tubos de hemólise. Em seguida, agitavam-se bem os tubos contendo as misturas, colocando-os em banho-maria a 37°C por 1 hora. Após este período, os tubos contendo as misturas foram transferidos para um banho de gelo, procedendo-se às inoculações intracerebrais em camundongos de 15 gramas, na dose de 0,03ml, utilizando-se para cada diluição 5 camundongos.

O cálculo do título do vírus e das doses neutralizantes foi feito pelo método de Reed-Muench (1938), considerando-se a neutralização de 10 D₅₀ suficiente para estabelecer a identidade do vírus, segundo o que preconizam os consultores em raiva, da Organização Mundial da Saúde (1967).

Imunofluorescência: a técnica de imunofluorescência é um método de diagnóstico sorológico pelo qual se põe em evidência, com a ajuda de um mi-

croscópio provido de luz ultravioleta, a reação antígeno-anticorpo, introduzindo-se no sistema uma substância fluorescente ligada a um deles.

A partir do ano de 1968, introduziu-se em nosso laboratório a rotina do diagnóstico da raiva pela prova de anticorpos fluorescentes pelo método direto (Silva *et al.* 1973). A amostra de vírus "1.661" foi submetida a esta prova em diferentes passagens em camundongos. Faziam-se impressões do cérebro em lâminas de vidro, sendo que cada lâmina recebia 2 impressões. Deixava-se secar em temperatura ambiente por 10 minutos, e mergulhavam-se as lâminas em frasco de Coplin com acetona, em uma temperatura de menos 20°C, por 30 minutos. Após este tempo, retiravam-se as lâminas da acetona, deixando-se escorrer o restante da acetona na própria temperatura de menos 20°C. Após a secagem no congelador, removiam-se as lâminas para a temperatura ambiente para uma perfeita eliminação da condensação. Circundavam-se as impressões com esmalte, colocando-se as lâminas em uma câmara úmida. A impressão próxima à etiqueta das lâminas recebia 2 gotas do conjugado anti-rábico diluído, conforme seu título, em suspensão de cérebros normais. A outra impressão era submetida ao conjugado diluído com suspensão de cérebros de camundongos infectados, com amostra de vírus rábico fixo "Pasteur". A câmara úmida contendo as lâminas era incubada a 37°C durante 30 minutos. Após este período, as lâminas eram retiradas da Câmara, lavando-se as impressões com salina tamponada, pH 7,4. Em seguida, imergiam-se as lâminas em salina tamponada por 10 minutos, lavando-se após este tempo com água destilada e secando-se-as-na temperatura ambiente em posição vertical. Finalmente, montagem das lâminas, com glicerina (pH 8,5) e lamínulas.

Para a microscopia, utilizou-se um microscópio Reichert Fluorpan, triocular, com oculares PK8; objetivas 16/0.32,160/ e 40/0.65,160/0.17, rotineiramente utilizadas e mais 60/0.95, 160 e 95/1.18 e 160/0.17, sendo estas duas últimas de imersão; condensador de campo escuro. Lâmpadas de mercúrio HBO 50/L2, filtro excitador nº 22 (UV pass filter 1.5mm UG1) e filtro de barragem nº 2 no canhão.

Imunidade Cruzada

1. Para a execução desta prova, prepararam-se vacinas inativadas pelo AEI (acetil-etileno-imina), tendo como fonte de vírus o cérebro de camun-

dongos de 21 dias de idade. Seguiu-se, em linhas gerais, o mesmo roteiro de trabalho anterior para o preparo da vacina (1971). Lotes de camundongos foram inoculados com a amostra de vírus rábico fixo "Pasteur", contendo 3.185 passagens em cérebro de coelho e com amostra de vírus "1.661", contendo 43 passagens em cérebro de camundongos.

Os camundongos inoculados apresentaram sintomas da infecção rábica no período de observação de 4 a 7 dias após a inoculação, sendo sacrificados *in extremis*, coletando-se os cérebros e conservando-os em congelador a menos de 20°C. No preparo das suspensões virulentas, os cérebros eram descongelados, pesados e triturados em liquidificador, adicionando-se diluente para obter-se suspensão de tecido nervoso a 5%. A seguir, centrifugava-se a suspensão, separando-se o sobrenadante, que era medido, e adicionava-se o inativante químico denominado acetil-etileno-imina (AEI), da Dow Chemical Co., na concentração final de 0,05%, colocando-se por 48 horas em temperatura de refrigeração (a 8°C). Ao fim deste período, a suspensão era tratada com a solução de tiosulfato de sódio a 5%, na proporção de 1ml desta solução para 10ml da suspensão de vírus.

2. Imunizaram-se grupos de 100 camundongos para cada uma das vacinas preparadas, seguindo-se o teste de Habel (1940), que em linhas gerais é o seguinte: 6 injeções intraperitoneais de 0,25 ml das vacinas contendo 0,5% de tecido nervoso, com vírus "Pasteur" e com vírus "1.661" foram aplicadas, intervaladamente, cada dois dias. Quatorze dias após a primeira vacinação, os camundongos foram divididos em lotes de 2 grupos para cada tipo de vacina, comprovando-se a imunização com vírus fixo "Pasteur" e com a amostra "1.661".

Virulência da amostra para bovinos

Com a finalidade de verificar a capacidade infecciosa do vírus IPEACS 1.661 para bovinos, selecionaram-se 5 animais, mestiços zebu, provenientes de zona onde, há mais de 5 anos, não ocorriam casos de raiva, e cuja idade variou de 6 meses a 1 ano. Destes, 3 foram inoculados com a diluição 1:1.000 do vírus na dose de 2ml, sendo 1ml injetado em cada lado, no músculo masseter. Os outros 2 foram inoculados com a diluição 1:100 do vírus, utilizando-se a mesma dose e a mesma via dos anteriores. A amostra de vírus continha, nesta época, 23 passagens em cérebros de camundongos.

A amostra de vírus IPEACS 1.661 vem sendo utilizada em nosso trabalho de verificação da imunidade produzida por diferentes tipos de vacina anti-rábica em bovinos, como em cobaias, desde o seu isolamento, que data do ano de 1961. Por solicitação do Dr. Eduardo Fuenzalida, esta amostra foi cedida ao Centro Panamericano de Zoonoses, Ramos Mejia — Argentina, contendo 19 passagens cerebrais no camundongo, no ano de 1965, sendo então designada como DR 19, e recomendada, posteriormente, para controlar a imunidade conferida por vacinas para uso bovino, tanto nesta espécie como em animais de laboratório (1972).

RESULTADOS

Isolamento do vírus

Decorridos 8 dias de inoculação, morreram 2 camundongos sem apresentarem sintomas de raiva, sendo eliminados. No 14º dia amanheceram 8 camundongos com sintomas de raiva, e na fase de paralisia foram sacrificados, coletando-se os seus cérebros para pesquisa de corpúsculos de Negri e novas passagens em camundongos. Os animais restantes ficaram sob observação. No 16º dia morreu mais um camundongo sem apresentação de sintomas nervosos, e no 23º dia, morreram mais 2, também sem sintomas nervosos. No 24º dia, amanheceram mais 2 camundongos doentes. Um deles morreu no 26º dia e o outro permaneceu aparentemente normal pelo período de 120 dias, quando foi eliminado.

Passagens seriadas do vírus foram realizadas, e atualmente a amostra contém 43 passagens em cérebros de camundongos.

Titulação do vírus. Obtiveram-se, nas primeiras titulações do vírus, os títulos de 10^{-4} , 10^{-5} (1ª passagem); $10^{-3,50}$ (3ª passagem); $10^{-3,66}$ (4ª passagem); e da 7ª passagem em diante, o título mínimo de $10^{-5,0}$, e, às vezes, superior, sem nunca atingir, porém, $10^{-7,0}$.

Identificação do vírus

Exame histoquímico: numerosos corpúsculos de Negri foram evidenciados no citoplasma e nos prolongamentos das células nervosas, nas diferentes passagens do vírus em camundongos.

Prova de soro-neutralização: pela leitura da Tabela 1, verifica-se que o soro imune proveniente do Instituto Butantan apresentou índice de neutralização 1,0, enquanto o soro normal de cavalo apre-

TABELA 1. Resultado do teste de soro neutralização da amostra IPEACS 1661

Amostra 1661	Título em DL ₅₀ /0,03ml/ic.		DL ₅₀
	Vírus soro Normal	Vírus Soro Padrão	Neutralizadas
(3ª passagem)	3,59	1,0	2,59 = 389

sentou título infectante de 3,59, o que correspondia a uma neutralização de 389 DL₅₀ da amostra de vírus em estudo.

Imunofluorescência: os esfregaços de cérebros de camundongos, em diferentes passagens da amostra de vírus, sempre demonstraram, por esta técnica, apreciável abundância de antígeno rábico, além da presença de inúmeros corpúsculos de Negri.

Imunidade cruzada.

Na Tabela 2, expressamos os resultados obtidos pelas comprovações das vacinas elaboradas com vírus fixo "Pasteur" e com vírus "1.661", com as mesmas amostras. A vacina elaborada com amostra de vírus rábico "Pasteur" apresentou proteção superior a 10^{-5,37}, quando comprovada com a própria amostra de vírus fixo. No entanto, na comprovação com vírus "1.661", a proteção foi de 10^{-4,83}.

A vacina preparada com amostra de vírus "1.661" demonstrou, na sua comprovação com vírus "1.661", proteção maior do que 10^{-5,16}, e proteção de 10^{-4,37}, ao ser comprovada com amostra de vírus fixo "Pasteur".

Virulência da amostra para bovinos.

Os bovinos inoculados com as diluições do vírus a 1:1.000, adoeceram no período de 58 dias de inoculação. Já os bovinos inoculados com a diluição a 1:100, apresentaram sintomas de raiva, no período de 25 a 28 dias de inoculação.

Os cérebros e as glândulas salivares dos bovinos doentes, e posteriormente sacrificados, foram submetidos à prova de imunofluorescência, evidenciando-se, nestes tecidos, o antígeno viral rábico. Constatou-se, ainda, a formação de corpúsculos de Negri no sistema nervoso, facilmente evidenciáveis pela técnica de Faraco.

Camundongos inoculados com suspensões destes tecidos, adoeceram e morreram com sintomas de raiva, no período de observação de 21 dias, comprovando-se no tecido cerebral a presença de antígeno viral rábico pela prova de imunofluorescência.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Em 1959, isolou-se uma amostra de vírus da raiva do cérebro de morcego hematófago, *Desmodus rotundus rotundus*, e foi inoculado em camundongos pela via intracraniana.

Na primeira passagem em camundongos, a amostra de vírus apresentou um período de incubação de 14 dias. Já na segunda passagem, o período de incubação baixou para 8 dias, e da quinta passagem em diante, para 5-6 dias, conservando este período até a presente data, quando a amostra contém 43 passagens.

As titulações do vírus nas passagens seriadas mostram que nas primeiras passagens não havia

TABELA 2. Poder imunizante das vacinas elaboradas com vírus fixo "Pasteur" e com vírus 1661 avaliado pelo teste de Habel.

Vacina	Comprovação	
	Vírus fixo "Pasteur"	Vírus 1661
Vírus fixo "Pasteur"	5,37	4,83
Vírus IPEACS 1661	4,37	5,16

muita riqueza em vírus, o que se conseguiu com maior número delas. Assim, na 3ª e 4ª passagens, o título era de $10^{-3,50}$ e $10^{-3,66}$, respectivamente. Atualmente, o vírus se encontra com 43 passagens intracerebrais em camundongos, e o seu título é de $10^{-5,16}$, e, às vezes, um pouco superior, nunca, entretanto, atingindo $10^{-7,0}$. Apesar da recomendação de vários "experts" em raiva, de que se deva somente empregar, para as comprovações de vacina em cobaias, um vírus com um título mínimo de $10^{-5,50}$, esta amostra tem sido largamente utilizada por nós para a verificação imunogênica das vacinas anti-rábicas, no teste em cobaias e no teste em bovinos, desde o ano de 1961. O vírus, na diluição a 1:100, e na dose de 0,1ml por via intramuscular, mata regularmente 80% ou mais dos cobaias-testemunhas.

A amostra de vírus "1.661", apesar de seriamente passada em camundongos, ainda mantém a sua característica de vírus de rua. Produz típicos corpúsculos de Negri nos neurônios dos animais infectados, como também tem demonstrado facilidade em se multiplicar nas glândulas salivares de bovinos inoculados. Reteve a capacidade de infectar bovinos por via intramuscular, conforme as experiências aqui relatadas. A amostra de vírus pôde ser recuperada dos tecidos nervosos e das glândulas salivares destes animais, por inoculação de camundongos, pela via cerebral.

A identidade da amostra estudada ficou estabelecida pela prova de soro-neutralização, quando se utilizou um soro imune de reconhecida propriedade neutralizante, pela prova de anticorpos fluorescentes e pela prova de imunidade cruzada.

REFERÊNCIAS

- BRICENO ROSSI, A.L. 1945. La existencia de la rabia canina y la pluralidad del virus rábico en Venezuela. Estudio general y experimental. Rev. San. y Asist. Social, Caracas, 10: 493-598.
- CARINI, A. 1911. Sur une grande epizootie de rage. Ann. Inst. Pasteur. 11: 843-846.
- CUNHA, R.G. & SILVA, R.A. 1971. Antigenicidade de vacinas anti-rábicas inativadas pelo acetil-etileno-imina, beta-propiolactona e fenol. Rev. Bras. Biologia, 31 (4): 435-440.
- FARACO, J. 1938. Nova técnica para obtenção de esfregaços por compressão e distensão de partes do encéfalo, medula espinhal etc. para a pesquisa de corpúsculos de Negri (coloração rápida dos esfregaços pelo método de Mann). Rev. Biol. Higiene. São Paulo, 9: 90-96.
- FUENZALIDA, E. & LARGHI, O. 1972. Características de una cepa de virus rábico aislada del cerebro de Desmodus rotundus rotundus. Bol. Ofic. San. Pan., 73 (2): 93-99.
- HABEL, K. 1940. A mouse test of the immunizing potency of antirabies vaccines. Public. Health Rep., 55: 1473-1487.
- KUBES, V. & GALLIA, F. 1942. Estudios inmunológicos sobre la pluralidad de los virus rábicos en Venezuela. Bol. Inst. Inv. Veterinárias, Caracas, 1: 3-46.
- MUÑOZ, D'AVILA, A. 1959. La rabia paralitica bovina en Ecuador. Tipificación y estudio de los virus rábicos aislados. Rev. Vet. y Zootecnia. 4 (2): 7-33.
- ORGANIZATION MONDIALE DE LA SANTÉ. 1967. La Rage. Techniques de laboratoire. Monographie n° 23, OMS. Genève.
- REHAAG, H. 1916, citado por HAUPT, H. & REHAAG, H. 1925. Raiva Epizootica nos rebanhos de Santa Catarina, Sul do Brasil, transmitida por morcegos. Bol. Soc. Bras. de Med. Vet., 2 (1-2): 36.
- REED, L.J. & MUENCH, H. 1938. A simple method of estimating fifty per cent end-points. Amer. Jour. Hygiene, 27: 493-497.
- SIKES, R.K. 1962. Pathogenesis of rabies in wildlife. Part I e II. Amer. Journ. Vet. Res., 23: 1041-1048.
- SILVA, R.A., SILVA, N.M. & GUIMARÃES, R.S. 1973. A utilização do método de imunofluorescência comparativamente com os métodos histoquímico e biológico no diagnóstico da raiva. Pesq. Agrop. Bras., 8: 1-4.
- TELLEZ GIRÓN, A. 1945. Relación inmunológica entre los virus del derriengue (*Cepa Desmodus*) y de la rabia. Rev. de la Soc. Mexicana de Historia Natural, VI (3-4): 179-195.
- TORRES, S. & QUEIROZ LIMA, E. 1935. A raiva e sua transmissão por morcegos hematófagos infectados naturalmente. Rev. Dep. Prod. Animal, Rio de Janeiro, 1(1,2,3):1-66.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Technical Report Series n° 523 - WHO Expert Committee on Rabies-Sixth Report-Geneva, 1973, pg. 14.

ABSTRACT. — ASPECTS OF THE PATHOGENICITY AND IMMUNOLOGICAL RELATIONS OF THE ONE RABIES VIRUS STRAIN ISOLATED FROM *DESMODUS ROTUNDUS ROTUNDUS* BAT.

A strain of rabies virus was isolated from vampire bat, *Desmodus rotundus rotundus*, captured in the Country of Blumenau, State of Santa Catarina (South of Brazil).

The characteristics of pathogenicity were studied in the mice and bovines. The immunological relations with standard rabies virus (Pasteur strain), were studied by neutralization and cross-immunization tests.

This strain was for us designated IPEACS 1.661 and in the present time contains forty-three passages in the mice, retained some of its street virus properties with Negri bodies formation into nervous cells and multiplication in the salivar glands of inoculated bovines by intra-muscular route.

Index terms: Rabies.