

Avaliação do ensaio LN34 Pan-Lyssavirus de RT-PCR em tempo real para detecção de diferentes variantes ou linhagens genéticas do vírus da raiva (RABV) brasileiras

Gabrielle Caldeira Pedro;

Maria Eduarda Rodrigues Chierato; Enio Mori;

Claudia Madalena Cabrera Mori.

FMVZ/USP

chierato@usp.br

Objetivos

Raiva é uma doença que afeta o sistema nervosa central (SNC) de mamíferos causando uma encefalite aguda e fatal. Devido à alta letalidade da doença (próximo de 100%), um diagnóstico confiável é importante. A imunofluorescência direta (IFD) é padrão ouro para o diagnóstico da raiva, porém pode apresentar resultados variáveis uma vez que o vírus não infecta o SNC de modo uniforme. Esse estudo visa a avaliação e implementação de um teste molecular específico e sensível, utilizando o ensaio RT-qPCR LN34 Pan-Lyssavirus como teste confirmatório para a IFD.

Métodos e Procedimentos

Amostras (n=214) de SNC de diferentes espécies animais infectados com *Rabies lyssavirus* (RABV) foram coletadas. Sequenciamento nucleotídico ou RT-qPCR foi realizado com a intenção de tipificar as diferentes variantes antigênicas do RABV. Todas as amostras foram testadas no ensaio RT-qPCR LN34 Pan-Lyssavirus.

Resultados

A maioria das amostras testadas (89,7%) foram detectadas no ensaio LN34. Apenas 21 amostras, de morcego insetívoros compatíveis com as linhagens *Histiotus* spp. (n=4), *Myotis* spp. (n=2), *Eptesicus* spp. (n=4), *Nyctinomops* spp. (n=2) and *Lasiurus* spp. (n=2), de primata não-humano compatível com a linhagem

Callithrix jacchus (n=1), de equinos e bovinos compatíveis com a linhagem AgV3 (n=6) foram negativos. Uma amostra de morcego insetívoro compatível com a linhagem *Myotis* spp. foi inconclusivo quando testado com o ensaio LN34 RT-qPCR.

Conclusões

Pode ser inferido que algumas linhagens genéticas do RABV podem apresentar alta variabilidade molecular o que dificulta a detecção utilizando o ensaio RT-qPCR LN34. Mais estudos são necessários, como o sequenciamento nucleotídico das amostras para poder demonstrar *in silico* a variabilidade molecular.

Referências Bibliográficas

OLIVEIRA, R. N.; et al. Rabies virus in insectivorous bats: implications of the diversity of the nucleoprotein and glycoprotein genes for molecular epidemiology. *Virology*, v. 405, n. 2, p. 352-360, 2010.

WADHWA, A. et al. A pan-Lyssavirus Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of highly variable rabies virus and other lyssaviruses. *PLoS neglected tropical diseases*, v.11, n.1, e0005258, 2017.

WHO - World Health Organization. WHO Technical Series: Expert Consultation on Rabies. Third report, 2018.

Suporte Financeiro: FAPESP (19/02637-2).

Evaluation of RT-qPCR LN34 Pan-Lyssavirus assay for the detection of different genetic lineages of RABV using Brazilian samples

Gabrielle Caldeira Pedro;

Maria Eduarda Rodrigues Chierato; Enio Mori;

Claudia Madalena Cabrera Mori.

FMVZ/USP

chierato@usp.br

Objectives

Rabies is a disease that affects the central nervous system (CNS) of mammals causing an acute and fatal encephalitis. Due to its high lethality (almost 100%), a reliable diagnosis is important. Direct fluorescent antibody test (dFAT) is considered the gold standard for rabies diagnosis, but it may have varying results, once the virus do not infect the CNS structures uniformly. This study aims the evaluation and implementation of a specific and sensitive molecular test, using RT-qPCR LN34 Pan-Lyssavirus assay as a confirmatory test for dFAT.

Materials and Methods

Samples (n=214) from CNS of different animals species infected with *Rabies lyssavirus* (RABV) were collected. Nucleotide sequencing or RT-qPCR were performed in order to typify the RABV antigenic variants. All samples were tested using the RT-qPCR LN34 Pan-Lyssavirus.

Results

Most of the samples tested (89,7%) were detected by the LN34 assay. Only 21 samples, from insectivore bats compatible with lineages *Histiotus* spp. (n=4), *Myotis* spp. (n=2), *Eptesicus* spp. (n=4), *Nyctinomops* spp. (n=2) and *Lasiurus* spp. (n=2), from marmosets compatible with lineage *Callithrix jacchus* (n=1), from equines and bovines compatible with AgV3 (n=6), were negative. One sample from

insectivore bat, compatible with lineage *Myotis* spp., was inconclusive when tested with LN34 RT-qPCR assay.

Conclusions

It may be inferred that some RABV lineages can present high molecular variability that hampers detection using the RT-qPCR LN34 assay. Further study will be needed, such as nucleotide sequencing of the samples, to demonstrate the molecular diversity in silico.

References

OLIVEIRA, R. N.; et al. Rabies virus in insectivorous bats: implications of the diversity of the nucleoprotein and glycoprotein genes for molecular epidemiology. *Virology*, v. 405, n. 2, p. 352-360, 2010.

WADHWA, A. et al. A pan-Lyssavirus Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of highly variable rabies virus and other lyssaviruses. *PLoS neglected tropical diseases*, v.11, n.1, e0005258, 2017.

WHO - World Health Organization. WHO Technical Series: Expert Consultation on Rabies. Third report, 2018.

Financial Support: FAPESP (19/02637-2)