



Instituto Nacional de
Enfermedades Infecciosas

"Dr. Carlos G. Malbrán"



ANLIS
MALBRÁN

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS
E INSTITUTOS DE SALUD "DR. CARLOS G. MALBRÁN"



Rabia: Diagnóstico y Vigilancia Molecular

Laboratorio Nacional de Referencia de Rabia



**MV. Esp. Piccirilli Martínez María
Guadalupe**

**Servicio de Neurovirosis
Departamento de Virología**

**Instituto Nacional de Enfermedades
Infecciosas
ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”**



Rabia

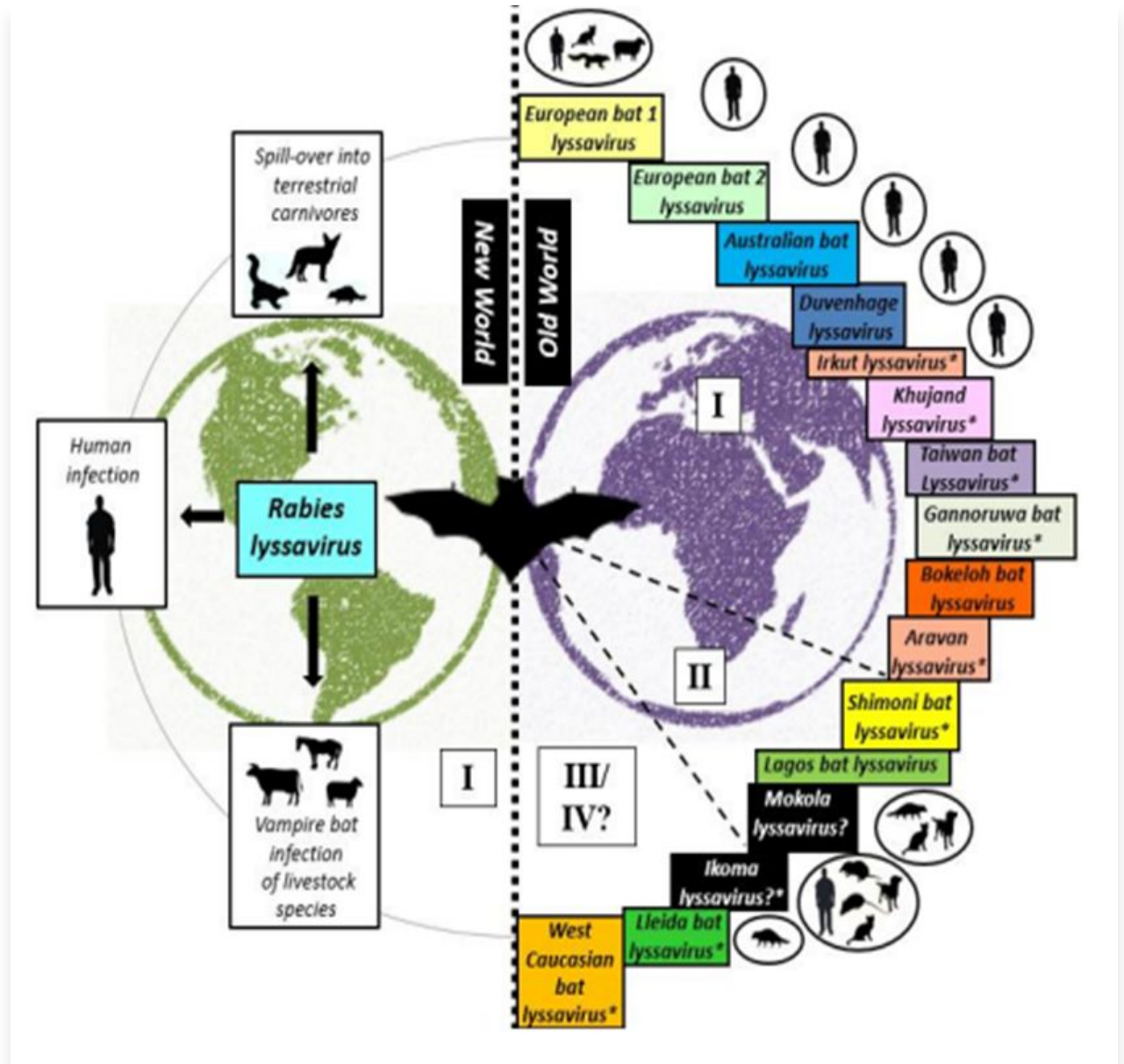
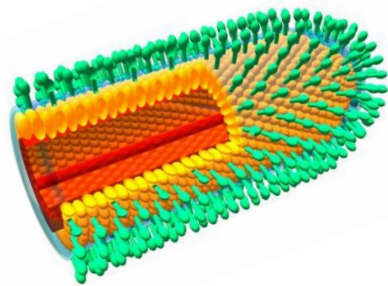
Enfermedad zoonótica viral, que produce una encefalitis aguda, habitualmente mortal que puede prevenirse mediante la vacunación de los animales y el hombre. Esta enfermedad se caracteriza por presentar lesiones en el SNC y es causada por el virus de la rabia.

Familia *Rhabdoviridae*

RABV

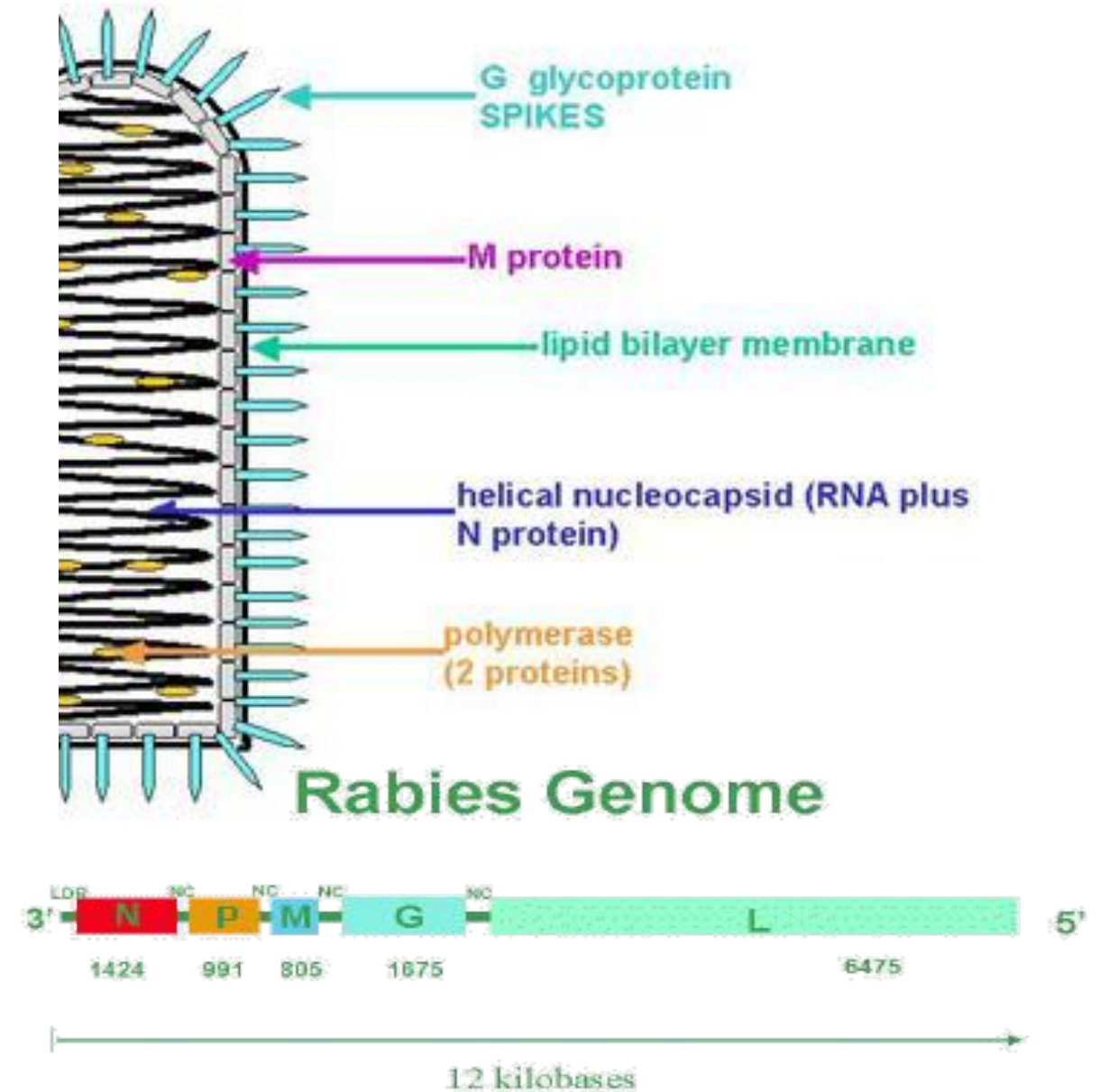
Género *Lyssavirus*

Filogrupo I



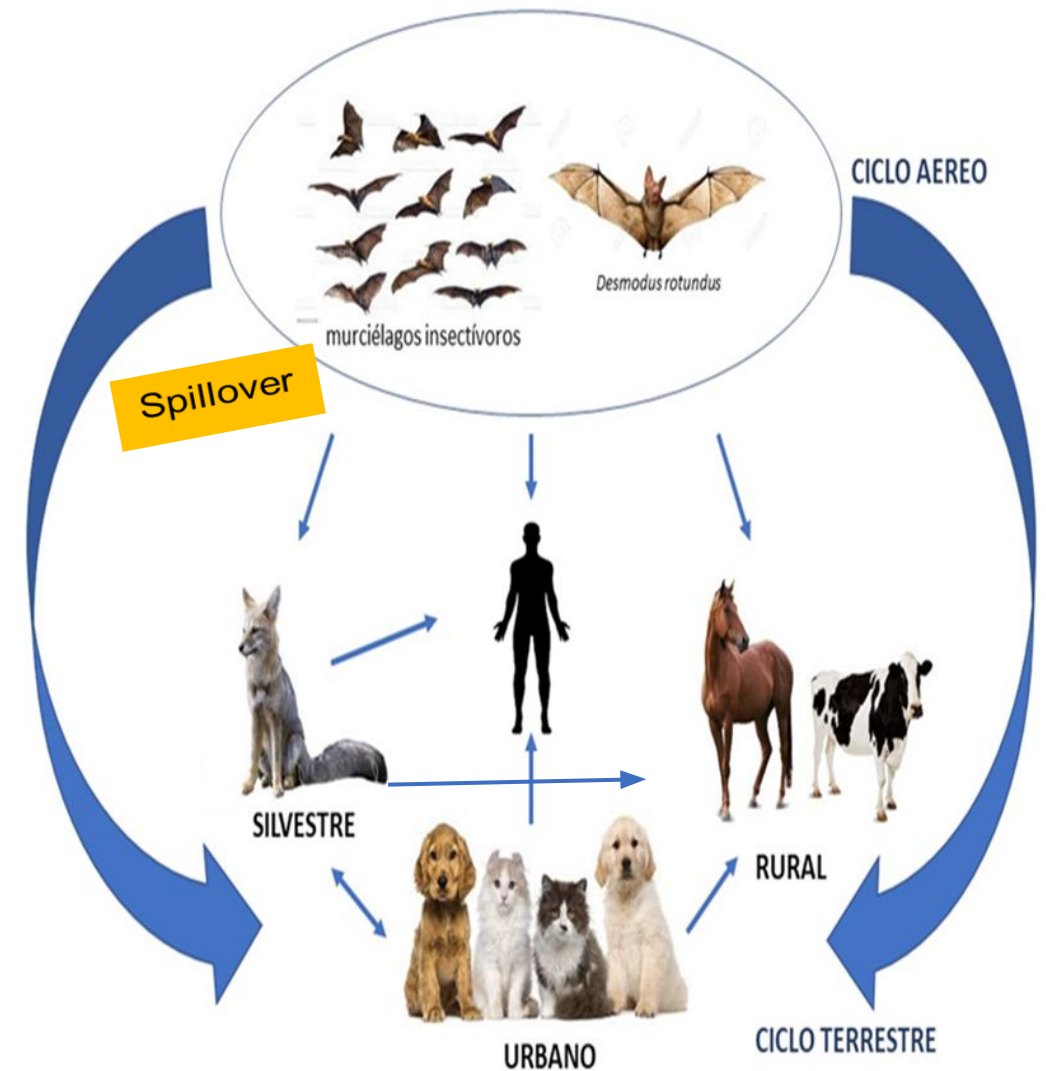
Etiología

- El virus Rábico es un virus **ARN**, monocatenario, no segmentado, de 12 Kb y de polaridad negativa.
- Tiene solo cinco proteínas:
 - la **Proteína G** (de superficie). Blanco de anticuerpos neutralizante.
 - La **proteína M** (matriz). Proteína de membrana que actúa como un puente entre la membrana o la proteína G
 - La **proteína N** (Nucleoproteína), principal proteína estructural, cubre el genoma de ARN, protegiéndolo de las nucleasas.
 - La **proteína L** (Larga) y la **NS** (también conocida como P (fosfo)) forman juntas la ARN polimerasa.

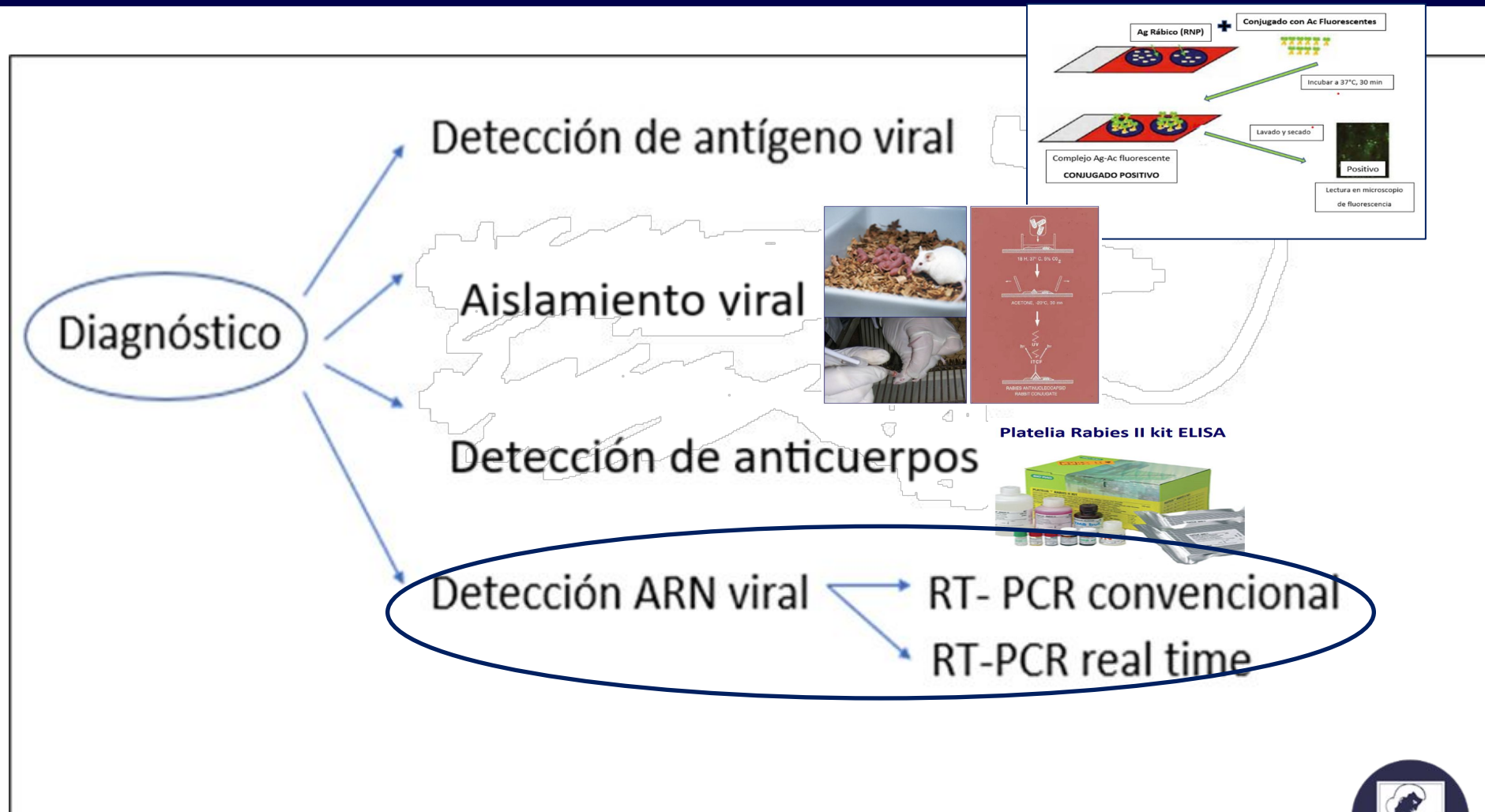


Epidemiología

- Dos ciclos epidemiológicos diferentes: uno terrestre, asociado con diferentes especies del orden Carnívora y otro aéreo transmitido por quirópteros.
- En Argentina se encuentran dos variantes terrestres: AgV1 asociada a perros domésticos y AgV2 circula entre los cánidos silvestres. Las variantes transmitidas por murciélagos se pueden subdividir en dos grupos: las variantes asociadas al murciélago hematófago *Desmodus rotundus* (AgV3 y AgV3a) y las que circulan entre murciélagos insectívoros, de las cuales se describieron cinco linajes distintos específicos de género asociados con especies de *Tadarida brasiliensis* (AgV4), *Myotis spp*, *Eptesicus spp*, *Histiotus spp* y *Lasiurus-Dasypterus* (AgV6)
- Transmisión: por mordedura, rasguño o lamido de mucosas
- PI: varía de 5 días a varios años (generalmente 2-3 meses)



Diagnóstico de laboratorio



Ensayo LN34 Pan-Lyssavirus RT-qPCR

Assay gene target and format	Primer/probe	Sequence (5'-3')	Location in genome ^a / orientation	Reference
N, SYBR	JW12 N165-146	ATG TAA CAC CYC TAC AAT G GCA GGG TAY TTR TAC TCA TA	55-73/+ 165-146/-	Hayman, Banyard, et al. (2011), Marston et al. (2019)
L, SYBR	Pan-Lyssa-7531F Pan-Lyssa-7749R	TTC TTC GCT YTR ATG TCW TGG AA ATG RTT GTT CCA CTT YTC ATA RTC	7074-7096/+ 7292-7269/-	Fischer et al. (2014)
N, TaqMan LN34	Primer F1 Primer F2 Primer R Probe LN34 Probe LN34 ligo	ACGCTTAACAACCAGATCAAAGAA ACGCTTAACAACAAAATCADAGAAG CMGGGTAYTTRTAYTCATAYTGRTC (FAM) AA+C+ACCY+C+T+ACA+A+TGGA (BHQ1) (FAM) AA+C+ACTA+C+T+ACA+A+TGGA (BHQ1)	1-24/+ 1-25/+ 140-164/- 60-76 59-75	Wadhwa et al. (2017)



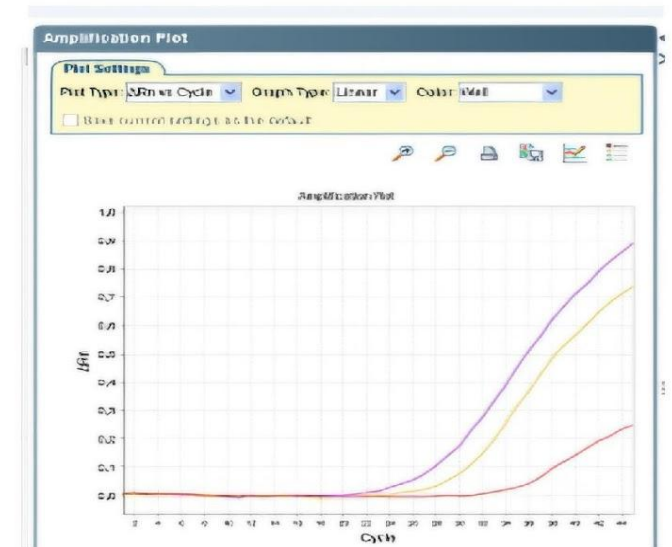
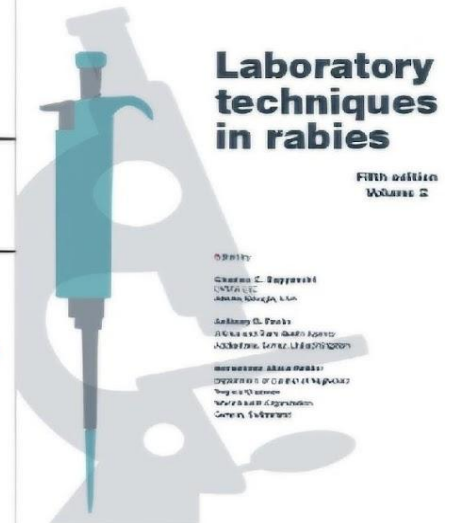
RESEARCH ARTICLE

A Pan-Lyssavirus Taqman Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Highly Variable Rabies virus and Other Lyssaviruses

Ashutosh Wadhwa, Kimberly Wilkins, Jinxin Gao, Rene Edgar Condori Condori, Crystal M. Gigante, Hui Zhao, Xiaoyue Ma, James A. Ellison, Lauren Greenberg, Andres Velasco-Villa, Lillian Orciari, Yu Li*

Poxvirus and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, United States of America

*yli@cdc.gov



CARACTERIZACIÓN ANTIGÉNICA

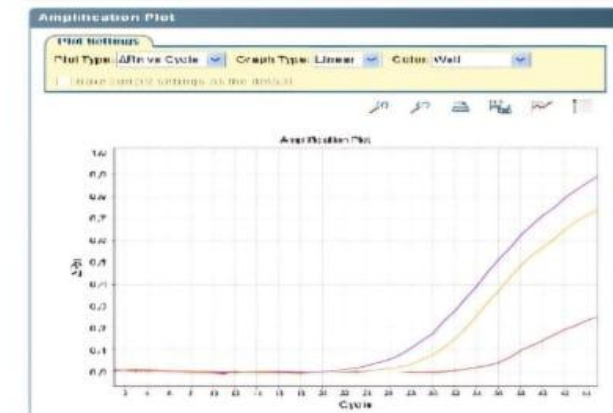
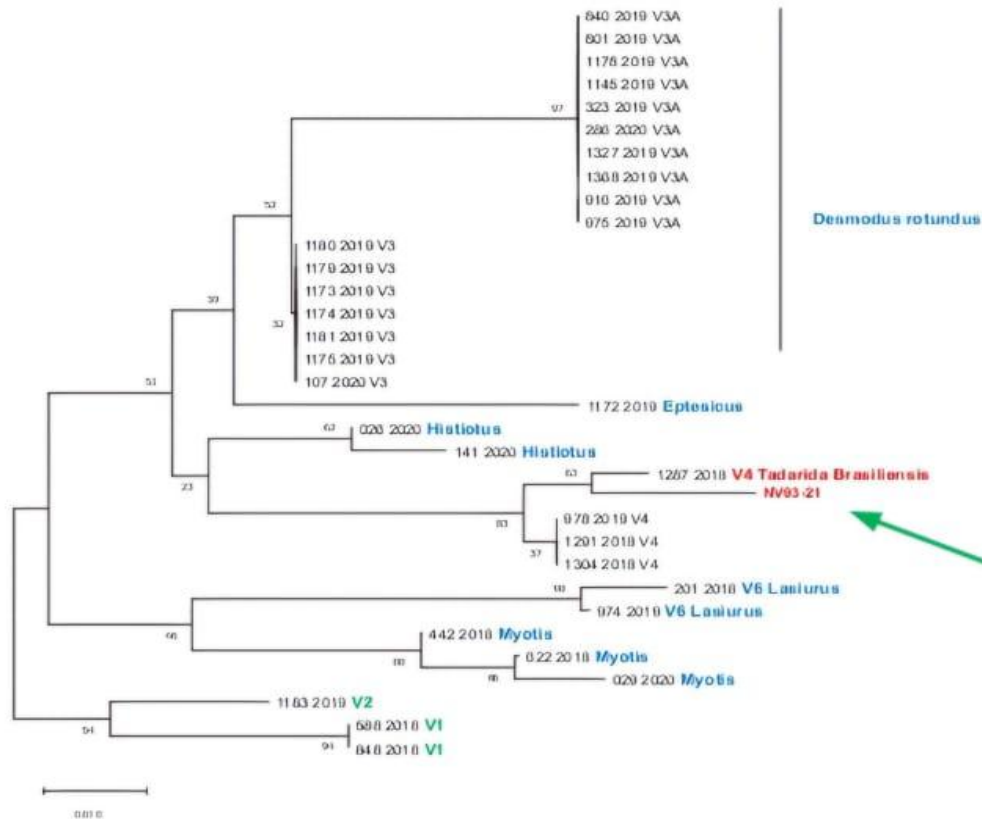
	C1	C4	C9	C10	C12	C15	C18	C19	AgV
CVS/ERA-SAD/PAST	+	+	+	+	+	+	+	+	Lab
Perro/mangosta	+	+	+	+	+	+	-	+	1
Perro	+	+	-	+	+	+	-	+	2
Desmodus rotundus	-	+	+	+	+	-	-	+	3
Tadarida brasiliensis	-	+	+	+	+	-	-	-	4
Vampiro	-	+	v	+	+	v	-	v	5
Lasiurus cinereus	v	+	+	+	+	-	-	-	6
Zorro de Arizona	+	+	+	-	+	+	-	+	7
Zorrillo Centro/Sur?	-	+	+	+	-	+	+	+	8
T. brasiliensis mex.	+	+	+	+	+	-	-	-	9
Baja SC zorrillo	+	+	+	+	-	+	-	+	10
Vampiro	-	+	+	+	-	-	-	+	11

PANEL DE MONOCLONALES NUCLEOPROTEINA VIRAL (CDC)

VARIANTE ANTIGÉNICA (AgV) = RESERVORIO VIRAL

Vigilancia Molecular

Análisis filogenético a partir de la sonda LN34 de Lyssavirus



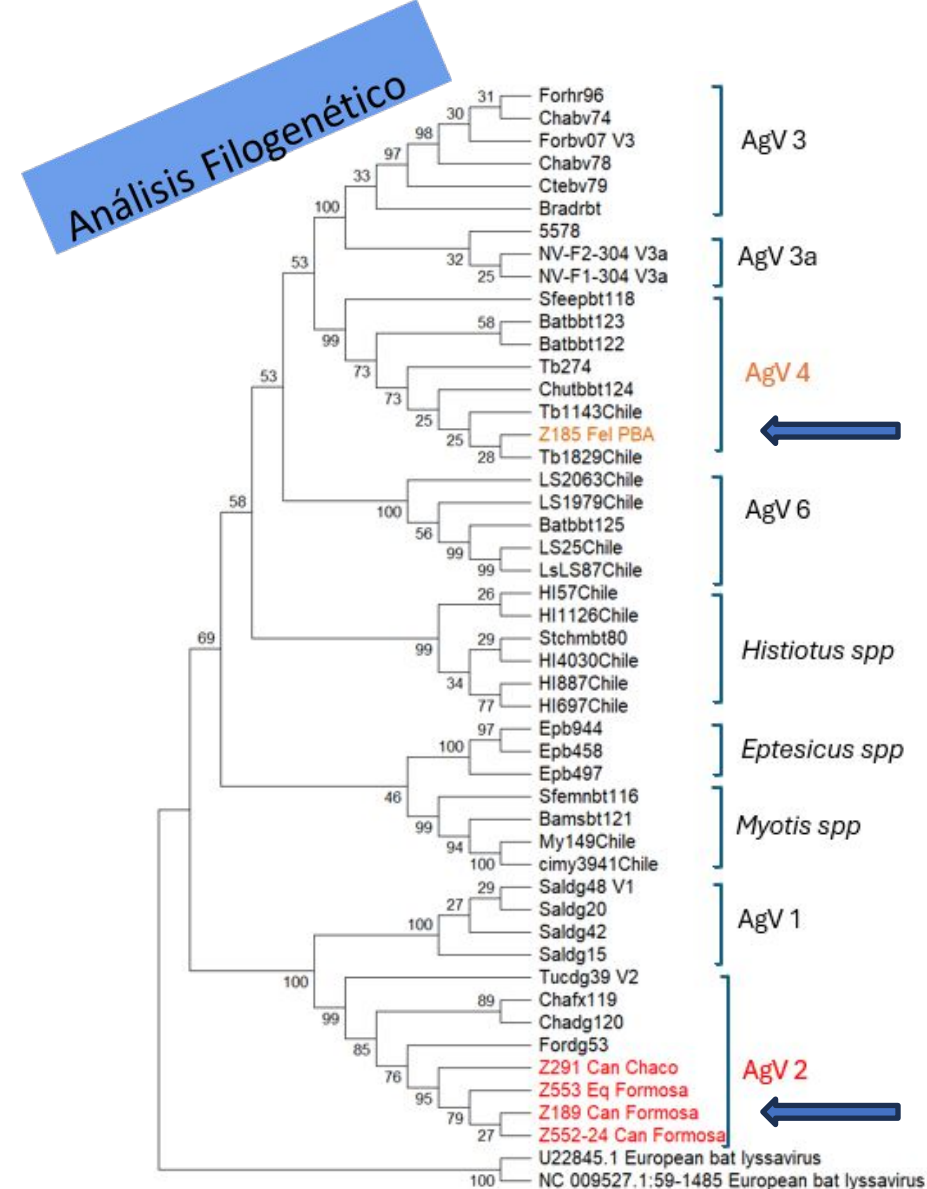
Hipotálamo
Médula
Corteza



Tabla: Caracterización genética de variantes rábicas por provincia.

Provincia	AgV1	AgV2	AgV3	AgV3a	AgV4	AgV6	<i>Myotis spp</i>	<i>Histiotus spp</i>	<i>Eptesicus spp</i>
Provincia de Buenos Aires					X		X		
Santa Fe				X		X	X		X
Chaco		X	X	X					X
Formosa		X	X	X					X
Corrientes		X				X			X
Chubut					X	X		X	
Tierra del Fuego								X	

- En 2024, el análisis filogenético de 4 muestras positivas (3 caninos y 1 equino) de Chaco y Formosa detectó la AgV2, asociada al ciclo terrestre.
- A comienzos de 2025, en la provincia de Buenos Aires, se identificó la variante antigénica 4 (AgV4) en un felino doméstico, confirmando un evento de spillover, revelando la importancia de sostener la vigilancia en animales de compañía y su vacunación.



Maximum Likelihood, modelo de Tamura-3 con 1000 réplicas de bootstrap



Next-Generation Sequencing (NGS)

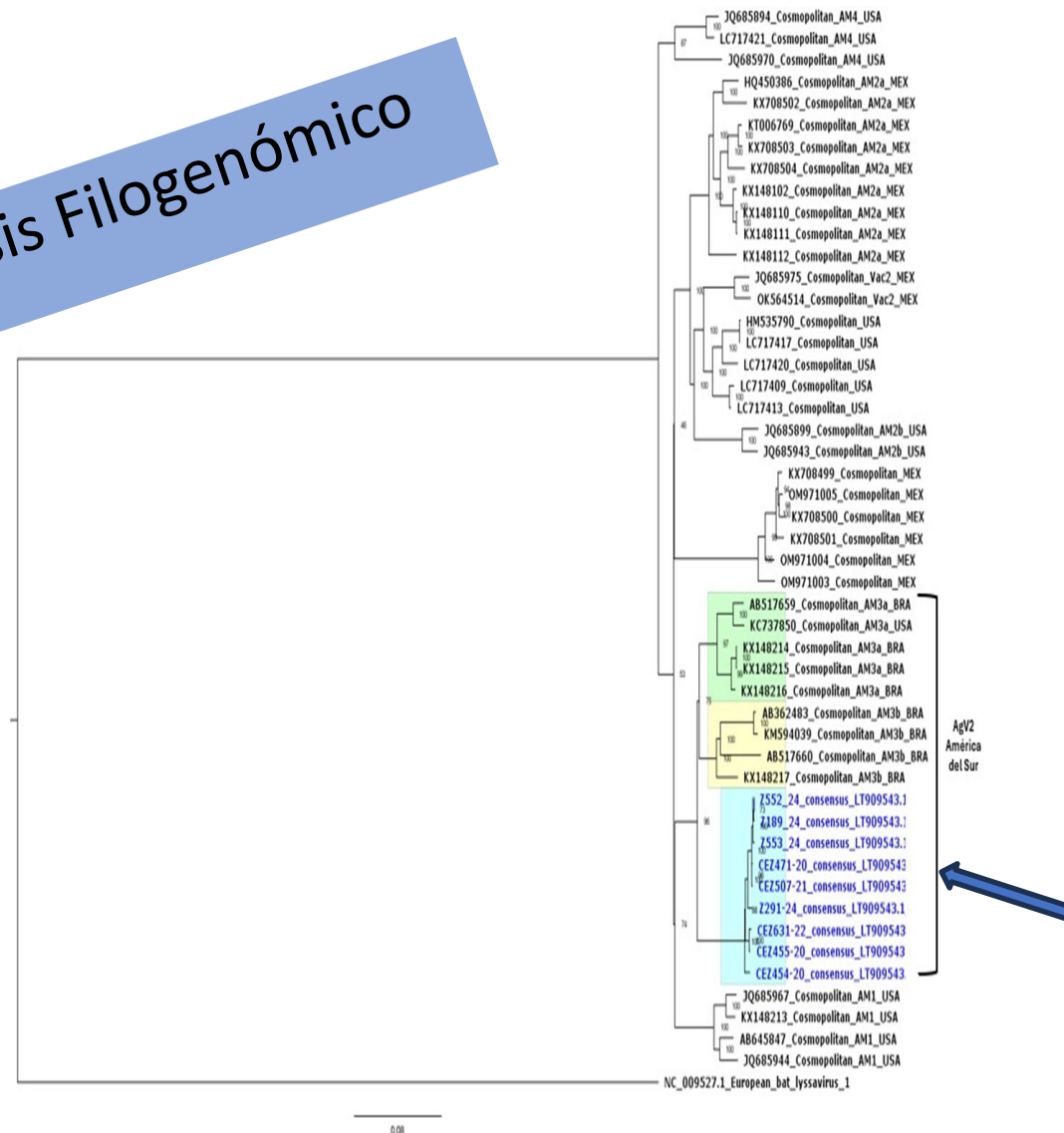
NEA, la variante antigénica 2 (AgV2), asociada al ciclo terrestre, ha evidenciado una circulación enzoótica sostenida.

2020, fue detectada en Corrientes en un bovino, en Chaco un aguará popé y en Formosa un canino y un bovino.

2021 y 2022, se confirmaron nuevos casos en caninos en Formosa y en 2024, se registraron cuatro casos, tres caninos y un equino, en Chaco y Formosa.

La recurrencia y distribución geográfica de estos hallazgos refuerzan la hipótesis de un ciclo de transmisión enzoótico activo en esta región del país.

Análisis Filogenómico

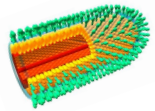


Árbol de máxima verosimilitud de 41 genomas completos de rabia clado Cosmopolitan de América y 9 genomas completos de Argentina. Alineamiento utilizando MAFFT, y el árbol fue construido con IQ-TREE bajo el modelo GTR + F + I + G4, con 1000 réplicas de Bootstrap.

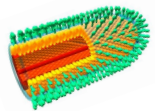


Conclusión

- La vigilancia molecular es una herramienta clave para:



- Identificar variantes rábicas y eventos de spillover.
- Mayor conocimiento de los reservorios y de los patrones de transmisión viral.
- Monitoreo de las variantes autóctonas.
- Identificar eventos de dispersión o introducción en nuevas áreas geográficas.
- Aporta información valiosa para orientar estrategias de prevención y control.



Es indispensable continuar fortaleciendo la Red Nacional de Laboratorios de Rabia, en especial, la caracterización genética sistemática de las muestras positivas en todo el país.



MUCHAS GRACIAS



mpiccirilli@anlis.gob.ar

