

Studi Epidemiologi, Isolasi, Dan Karakterisasi Virus Rabies Lapangan Di Bali-Indonesia Tahun 2022

¹I Wayan Masa Tenaya, ¹Kadek Karang Agustina, ¹Ida Bagus Ngurah Swacita,
²Ni Luh Putu Agustini, ³Yuli Miswati

¹Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner Universitas Udayana, Denpasar Bali

²Balai Besar Veteriner Denpasar, Jln. Raya Sesetan 266 Pegok.

³Balai Veteriner Bukittinggi, Jln. Raya Bukittinggi, Sumatra Barat 26192

*Penulis koresponden: wayanmasatenaya@unud.ac.id

Abstrak. Ratusan tahun sebelumnya, Pulau Bali adalah salah satu wilayah bebas rabies di Indonesia. Namun pada akhir November 2008 penyakit ini pertama kali dilaporkan di wilayah Tanjung Benoa dan cepat menyebar ke seluruh kabupaten di Bali. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan penyebaran epidemiologi, isolasi dan karakterisasi virus rabies di Bali, dalam upaya menyiapkan calon vaksin lokal. Metode yang digunakan adalah uji *fluorescent antibody technique* (FAT), *real-time polymerase chain reaction* (RT-PCR) dan *tissue culture* (TC) untuk mendeteksi partikel virus dan adaptasi serta perbanyak virus. Hasil menunjukkan bahwa semua sampel otak anjing dengan gejala rabies yang diambil dari semua kabupaten/kota positif mengandung virus rabies. Virus rabies tersebut juga berhasil diadaptasikan dengan titer terendah 10^{-5} /ml yang masih mampu membunuh semua tikus percobaan jenis *BALB/c* dengan gejala klinis khas rabies. Kesimpulan bahwa secara epidemiologi, virus rabies beredar di semua kabupaten/kota di Bali dan dapat diisolasi, ditumbuhkan dan dikarakterisasi secara *in vivo* yang mungkin dapat dijadikan sebagai calon vaksin strain *homolog*/lokal.

Kata Kunci: *Fluorescent antibody techniques, murine neuroblastoma cells, real-time polymerase chain reaction, Rabies.*

I. PENDAHULUAN

Rabies adalah penyakit virus zoonosis dan hampir selalu fatal yang mengancam kesehatan hewan dan manusia di banyak bagian negara. Di Bali, rabies pertama kali dilaporkan di Semenanjung Selatan Bali pada November 2008, menyebar dengan cepat ke semua kabupaten dan sekarang menjadi endemik [1]. Kondisi ini menimbulkan keresahan masyarakat dan menghabiskan banyak uang untuk mengendalikan penyakit baik bagi manusia maupun hewan. Vaksinasi massal pada anjing di seluruh pulau telah diterapkan, dengan menggunakan lebih dari satu jenis vaksin yang direkomendasikan. Tidak diketahui apakah vaksin yang diterapkan dapat merangsang produksi antibodi protektif atau tidak, karena tidak ada uji tantangan pada host target. Kecurigaan tersebut muncul ketika selama tahun 2011, 11 dari total 88 sampel (12,5%) otak anjing yang di uji dengan *direct fluorescent antibody test* (DFAT), positif rabies (*unpublished data*). Data ini menunjukkan bahwa program vaksinasi mungkin perlu dievaluasi. Diduga titer antibodi protektif belum dapat ditentukan waktu itu karena uji netralisasi serum belum tersedia. Teknik yang sebelumnya digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus rabies pada jaringan otak anjing yang terinfeksi adalah DFAT [2][3], *real time-polymerase chain reaction* (RT-PCR) [4], studi genetik seperti *sequencing* dan *phylogenetic tree analyzes* (PTA) [5]. Data PTA menunjukkan bahwa nenek moyang virus rabies di Indonesia berasal dari Jawa dan keturunannya ditransmisikan ke pulau lain seperti Kalimantan, Sumatera, Flores, Bali dan selanjutnya ditularkan ke Sulawesi dan kembali ke Kalimantan [5].

Meskipun studi genetik telah dilakukan hampir secara komprehensif, belum ada studi *in vitro* yang dikembangkan untuk membiakkan virus untuk analisis biologis lebih lanjut. Sistem *tissue culture* (TC) dianggap sebagai cara diagnosis infeksi rabies yang paling sesuai [6]. Oleh karena itu, dianggap penting mengembangkan suatu tes untuk mengevaluasi jenis vaksin mana yang dapat memberikan antibodi protektif terhadap virus rabies di Bali. Selain itu, belum ada vaksin rabies homolog lokal yang dapat dipakai sebagai alternatif vaksinasi untuk mengendalikan kasus rabies di Bali. Konsekuensinya, referensi virus rabies lokal harus diperoleh. Dalam sistem TC, virus rabies dapat ditumbuhkan pada beberapa cell lines. Pada tahun 1978 dilaporkan bahwa virus rabies lapangan/alam dapat ditumbuhkan dalam sel *murine neuroblastoma* (N2A) [7]. Pembrokian virus rabies asal hewan (kelelawar Lagos, Mokola dan Duvenhage) dalam sel N2A menyebabkan *Cytopathic efek* (CPE) yang lebih parah daripada menggunakan sel Baby Hamster Kidney-21 (BHK-21) [8]. Sel sel BHK-21 dapat lebih sensitif terhadap virus rabies dengan penambahan diethylaminoethyl-dextran [9]. Namun, sel N2A dianggap lebih permisif dibandingkan dengan sel BHK-21 dan sel CER untuk menumbuhkan virus rabies lapangan tersebut [10], [11]. Infeksi N2A dengan virus rabies secara sensitif dapat ditunjukkan dengan menggunakan teknik DFAT [12], atau uji inokulasi tikus percobaan

jenis *BALB/c* [13]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penyebaran epidemiologi virus rabies di Bali dan upaya menyiapkan calon vaksin homolog dengan mengisolasi, mengkarakterisasi virus rabies lapangan menggunakan uji *fluorescent antibody technique* (FAT), *real-time polymerase chain reaction* (RT-PCR), *tissue culture* (TC) dan *mouse inoculation test* (MIT).

II. METODE DAN PROSEDUR

Sumber virus, teknik antibodi fluoresen

Sumber virus rabies dalam penelitian ini diambil dari 16 anjing pengidap alami (*rabid*) yang berasal dari delapan kabupaten, 2 sampel per kabupaten di Bali dan diserahkan ke Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar. Untuk uji konfirmasi pertama, semua sampel diuji dengan DFAT untuk membuktikan partikel virus rabies sesuai protokol standar [14] dengan sedikit modifikasi. Sampel otak dioleskan tipis secara hati-hati pada gelas objek dan dikeringkan selama 5 menit, difiksasi dengan aseton dingin selama 20 menit dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan diinkubasi dengan IgA anti tikus dan kambing, IgG dan IgM kelinci *neon isothiocyanate conjugate* (Bio-Rad) selama 30 menit dalam tempat/ruangan gelap pada suhu 37°C. Setelah dicuci dengan PBS, buffer gliserin kering diteteskan di atas kaca objek dan diperiksa di bawah mikroskop fluoresen (Nikon, Jepang) dengan perbesaran 100x. Untuk adaptasi dan perbanyak virus rabies yang berasal dari spesimen anjing pada tikus *BALB/c* dilakukan *mouse inoculation test* (MIT) sesuai protokol standar [13] dengan sedikit modifikasi. Suspensi 10% otak anjing segar dari sampel terpilih disiapkan dalam *Modified Eagle Medium* (DMEM) Dulbecco, yang mengandung 200 IU penicillin-G ml⁻¹, 200 µg ml⁻¹ streptomycin sulfate dan 200 µg ml⁻¹ gentamicine sulfate yang dibuat di dalam *Bio Safety Cabinet* (BSC) II, untuk menghindari penyebaran virus ke lingkungan. Untuk adaptasi virus rabies dari otak anjing yang positif, digunakan 10 ekor tikus percobaan umur 10 dari 4 minggu, delapan ekor di inokulasi secara *intra-serebral* dengan 0,2 ml suspensi otak dari masing-masing sampel.

Uji inokulasi pada tikus percobaan

Dua ekor tikus lainnya kemudian di inokulasi dengan standar virus tantangan (ATCC VR 959 CVS-11) yang disediakan oleh Dr. Enuh dari Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BPMSOH) Bogor, sebagai kontrol positif. Sebagai kontrol negatif, tikus percobaan umur 5 minggu ke-4 hanya disuntik DMEM yang tidak mengandung virus dengan metode inokulasi yang sama. Semua tikus percobaan tersebut diamati setiap hari dan setiap hewan yang mati dengan tanda klinis khas rabies setelah satu minggu pasca inokulasi dianggap reaktif dan disimpan pada suhu -80°C sampai diperlukan untuk uji lebih lanjut.

Inokulasi virus rabies pada sel N2A

Sampel sel *murine neuroblastoma* (N2A) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *The Australian Animal Health Laboratory* (AAHL, Gelong). Sebanyak 6,0 x 10⁵ sel per ml ditumbuhkan dalam 12 well tissue culture plate (Iwaki) dengan DMEM lengkap (Sigma Aldrich) ditambah dengan 10% fetal calf serum (FCS), 200 IU penicillin-G ml⁻¹ dan 200 µg ml⁻¹ streptomisin sulfat, dalam inkubator yang dikondisikan pada suhu 37°C dengan 7% CO₂. Sebelum sel dijatuhkan ke dalam pelat, kaca penutup steril diletakkan di bagian bawah pelat. Ketika sel-sel menunjukkan tahap monolayer, 10% suspensi otak tikus percobaan *BALB/c* yang mati setelah infeksi virus rabies dilarutkan dengan *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), yang mengandung 200 IU penicillin-G ml⁻¹, 200 µg ml⁻¹ streptomycin sulfate dan 200 µg ml⁻¹ gentamisin sulfat dan didiamkan pada suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan kultur dari TC flash dituang dan 0,3 ml dari 10% suspensi otak tikus tersebut diatas kemudian dimasukkan ke dalam sumur TC flash berturut-turut setelah disaring dengan 0,2 nm, digoyangkan dengan lembut dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15-30 menit untuk penyerapan. Kultur kontrol negatif dibuat dengan menginokulasikan kaca *cover slip* dengan DMEM lengkap yang tidak mengandung suspensi otak. Akhirnya sel yang terinfeksi diinkubasi, diamati setiap hari dan ketika sel menunjukkan CPE (biasanya 3-4 hari), supernatan kultur dikumpulkan dan disimpan pada suhu -80°C sampai diuji dan *cover slip* yang berisi sel dikeringkan dan di fiksasi dengan aseton dingin *absolute* untuk pewarnaan FAT.

Konfirmasi keberadaan virus yang diadaptasi dalam kultur jaringan

Tes biologis dilakukan untuk menentukan keberadaan antigen virus dalam supernatan kultur yang terinfeksi, menggunakan MIT seperti di atas. Serangkaian pengenceran sepuluh tetes supernatan, berkisar dari 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ 10⁻⁴ 10⁻⁵ 10⁻⁶ dan 10⁻⁷ per ml, dan DMEM normal dibuat kemudian 0,2 ml masing-masing diinokulasikan ke dalam 8 kelompok tikus percobaan umur 4 minggu. Tikus yang sudah diinfeksi diamati adanya gejala klinis rabies. Kaca *cover slip* yang berisi sel terinfeksi yang telah difiksasi dengan aseton dingin diwarnai dengan FAT menurut protokol standar seperti diatas. Studi konfirmasi PCR juga dilakukan oleh rekan-rekan dari laboratorium referensi rabies di Balai Veteriner (BVet) Bukittinggi, Sumatera Utara, dengan menguji jaringan otak dan sampel TC, menggunakan protokol mereka sendiri.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

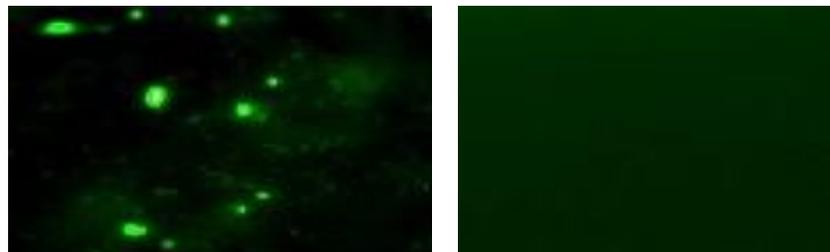
Dari total 16 sampel otak anjing yang menunjukkan tanda klinis rabies secara klinis (anjing gila) yang diperoleh dari delapan kabupaten di Bali semuanya positif FAT, meskipun derajat reaksi FAT bervariasi sesuai (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Fat Sampel Otak Anjing Terduga Rabies Dari Delapan Kabupaten Di Bali

No	Kabupaten	Total Sampel	Derajat Reaksi FAT
1	Singaraja	2	1 (+++), 1 (++)
2	Karangasem	2	1 (+++), 1 (++++)
3	Klungkung	2	1 (++) , 1 (++)
4	Bangli	2	1 (++) , 1 (++)
5	Gianyar	2	1 (++) , 1 (++)
6	Badung	2	1 (++) , (+)
7	Tabanan	2	1 ((++) , (++)
8	Jembrana	2	1 (++) , 1 (+)
Total		16	

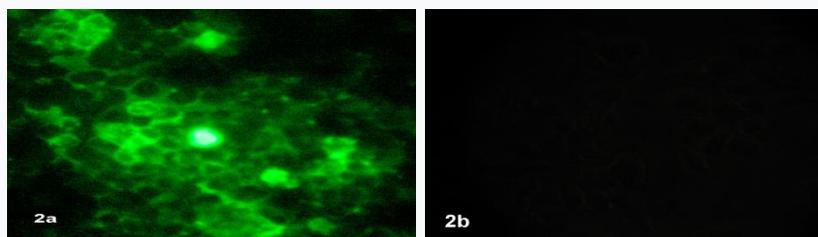
Catatan: Hasil FAT diberi skor sebagai berikut: +++ = reaksi sangat kuat, ++ = Reaksi sedang, + = Reaksi rendah

Dari 16 spesimen otak yang berasal dari delapan kabupaten anjing yang terinfeksi secara alami di Bali, semuanya positif FAT tetapi hanya enam di antaranya yang menunjukkan sinyal fluoresensi positif yang sangat kuat dan dipilih untuk diinokulasi ke tikus percobaan BALB/c dibandingkan dengan reaksi negatif (Gambar 1).



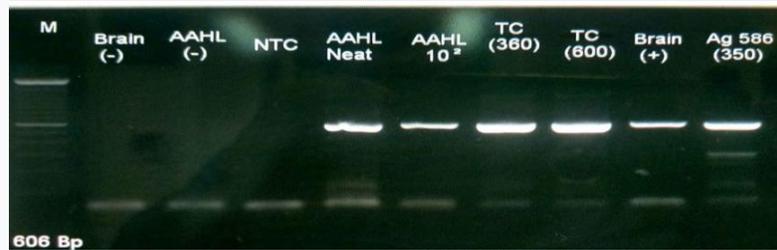
Gambar 1. Contoh Uji FAT Sel Otak Anjing Positif Rabies Ditunjukkan Dengan Warna Fluoresen Hijau Tajam (Kiri), Hasil Negatif Tanpa Warna Fluoresen (Kanan), Pembesaran 100X

Semua dari 10 tikus percobaan *BALB/c* yang terinfeksi dengan suspensi otak anjing 10% dan semua hewan kontrol yang terinfeksi CVS mati dengan rabies khas 9-12 hari setelah infeksi, tetapi semua hewan kontrol negatif bertahan sampai percobaan dihentikan. Sel-sel N2A dapat tumbuh secara produktif dan infeksi sel dengan rabies yang dibuat dari suspensi otak tikus percobaan *BALB/c* yang terinfeksi menyebabkan CPE (Gambar tidak ditampilkan). Ketika sel N2A terinfeksi diuji dengan FAT, mereka menunjukkan reaksi positif yang kuat, tetapi tidak ada reaksi pada kontrol negatif, N2A yang tidak terinfeksi diwarnai dengan FAT (Gambar 2). Inokulasi supernatan kultur yang terinfeksi rabies ke tikus percobaan *BALB/c* lainnya dengan titer terendah 10^{-5} per ml, membunuh semua tikus percobaan tersebut dengan tanda khas rabies yang mirip dengan kontrol CVS positif (Gambar tidak ditunjukkan).



Gambar 2. Contoh Uji Fat Pada Sel-Sel N2a Positif Rabies, Ditunjukkan Dengan Warna Fluoresen Hijau Tajam (Kiri), Dan Hasil Negatif (Kanan), Pembesaran 100X

Konfirmasi lebih lanjut jaringan otak yang terinfeksi rabies diuji dengan RT-PCR di laboratorium BVet Bukittinggi, Sumatera Utara. Hasil PCR menunjukkan amplifikasi DNA yang spesifik rabies dan sejajar dengan kontrol DNA dan standar lainnya (Gambar 3).



Gambar 3. Contoh Uji Pcr Otak Anjing Positif Rabies Menunjukkan Dna Spesifik (~498 Bp (Kolom 2 Dari Kanan). Dna Tersebut Seajar Dengan Dna Dari Tc Dan Kontrol Positif Dna (Aahl Neat Dan Aahl 10⁷), Namun Negatif Untuk Semua Kontrol Negatif Lainnya.

Uji TPA virus Bali menunjukkan bahwa nenek moyang virus tersebut berasal dari Pulau Kalimantan Indonesia [15]. Namun, belum ada penelitian dilakukan untuk kultur jaringan untuk melihat sifat alami, distribusi epidemiologis, isolasi dan karakterisasi virus rabies lokal Bali untuk menyediakan vaksin sebagai alternatif mengendalikan penyakit ini. Penelitian pendahuluan saat ini menguji sampel otak anjing suspek rabies dari semua kabupaten di Bali menunjukkan bahwa semua positif DFAT dan distribusi luas virus Bali secara epidemiologis. Tahap selanjutnya dilakukan isolasi dan karakterisasi virus dengan sistem kultur jaringan. Mekanisme isolasi virus sangat penting dalam adaptasi rabies virus lapangan. Banyak makalah yang diterbitkan menggambarkan berbagai cara untuk menumbuhkan dan menganalisis virus dalam sistem kultur jaringan. Namun, kami menemukan bahwa metode yang disediakan oleh Umoh dkk. [10] dan Robert dkk.[11] dinilai cocok dan berhasil diterapkan untuk menumbuhkan dan mengisolasi virus rabies dengan menggunakan sel N2A. Titik kritis dari metode ini adalah, suspensi otak anjing yang positif rabies tidak boleh langsung diinokulasikan ke dalam sel N2A tetapi terlebih dahulu harus diadaptasikan ke tikus percobaan *BALB/c*. Ketika tikus tersebut mati dengan tanda khas rabies, suspensi otaknya dipindahkan ke dalam sel N2A, untuk menumbuhkan virus. Infeksi langsung suspensi otak anjing positif rabies ke dalam sel N2A menghasilkan konsentrasi virus yang sangat rendah. Fenomena ini bahwa dengan propagasi virus rabies pada tikus percobaan sebelum dipindahkan ke sel N2A akan lebih mudah, karena sejatinya sel N2A awalnya berasal dari otak tikus. Pada penelitian ini, penggunaan sel N2A untuk menumbuhkan virus rabies alam/lapangan di Bali sudah tepat dan menghasilkan konsentrasi titer virus yang tinggi pada supernatannya. Kehadiran antigen virus dalam sel N2A yang terinfeksi dikonfirmasi oleh FAT langsung menunjukkan reaksi positif spesifik ditandai adanya inklusi fluoresen hijau terang dalam sitoplasma sel yang terinfeksi virus, sinyal positif kuat (Gambar 2a). Penyuntikan kultur supernatan positif rabies ke tikus percobaan *BALB/c* lainnya yang rentan dapat membunuh semua tikus tersebut dengan titer terendah 10^{-5} per ml, memastikan isolasi virus berhasil. Konsentrasi virus yang lebih rendah dari 10^{-6} per ml hanya membunuh 50% dari hewan yang terinfeksi, menandakan LD50 virus tersebut, suatu dosis penting apabila akan melakukan uji tantangan pengujian vaksin. Konfirmasi virus rabies yang diisolasi menggunakan PCR konvensional menghasilkan amplifikasi DNA spesifik sekitar 498 bp sesuai dengan standar kontrol DNA yang disediakan oleh Laboratorium Kesehatan Hewan Australia (AAHL (Geelong-Australia), menandakan bahwa virus rabies Bali mempunyai hubungan genetik yang luas dan sangat penting apabila digunakan sebagai kandidat vaksin.

IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian saat ini membuktikan bahwa secara epidemiologi, virus rabies yang sama telah tersebar di semua kabupaten di Bali. Keberhasilan isolasi dan karakterisasi virus rabies lapangan di Bali-Indonesia, merupakan temuan baru dalam upaya pembuatan *tissue culture* vaksin menggunakan virus lokal yang bersifat *homolog* sebagai alternatif pengadaan vaksin karena semakin terbatasnya importasi vaksin sesuai direkomendasikan oleh WHO, dan untuk ikut menyumbangkan pikiran terkait penanganan rabies Bali yang belum selesai.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktur Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Departemen Pertanian Republik Indonesia, atas pendanaan dan dukungan penelitian ini, terutama data surveilans dan pekerjaan laboratorium. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar atas data pengabdian yang baru digunakan sebagai laporan teknis dan belum/tidak dipublikasikan untuk kepentingan akademik. Kami mengucapkan terima kasih kepada seluruh rekan-rekan di Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner Universitas Udayana atas bantuan dan persahabatannya, serta semua rekan, kawan, saudara yang telah membantu terselesainya penelitian dan tulisan ini. Akhir kata kami mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana atas dukungan dan pengertiannya.

Daftar Pustaka

- 1 K. Santhia, "Human rabies epidemiology in Bali, Indonesia," *Int. J. Heal. Med. Sci.*, vol. 2, pp. 7–16, 2019, doi: 10.31295/ijhms.v2n1.77.
- 2 A. M. Dean DJ, "Laboratory techniques in rabies: the fluorescent antibody test. Monogr Ser World Health Organ. 1973;(23):73-84. PMID: 4219510.," in *Monogr Ser World Health Organ. 1973;(23):73-84. PMID: 4219510.*, 2073.
- 3 B. J. A. M. F. A. (1995)., "Diagnostic de la rage animale en France de 1991 à 1993, bilan de CNEVA laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages en France. Revue Méd. Vét., 146, 561– 566itle," 1995.
- 4 A. Deubelbeiss, M.-L. Zahno, M. Zanoni, D. Bruegger, and R. Zanoni, "Real-Time RT-PCR for the Detection of Lyssavirus Species.," *J. Vet. Med.*, vol. 2014, p. 476091, 2014, doi: 10.1155/2014/476091.
- 5 I. N. Dibia, B. Sumiarto, H. Susetya, A. A. G. Putra, H. Scott-Orr, and G. N. Mahardika, "Phylogeography of the current rabies viruses in Indonesia.," *J. Vet. Sci.*, vol. 16, no. 4, pp. 459–466, 2015, doi: 10.4142/jvs.2015.16.4.459.
- 6 A. Noviantari and K. Khariri, "Cell Culture As the Most Certain Way of Diagnosis in Rabies Infection," *Int. Conf. Agromedicine Trop. Dis.*, vol. 3, no. 1, p. 21, 2020, doi: 10.19184/icatd.v3i1.24083.
- 7 A. L. Smith, G. H. Tignor, R. W. Emmons, and J. D. Woodie, "Isolation of field rabies virus strains in cer and marine neuroblastoma cell cultures," *Intervirology*, vol. 9, no. 6, pp. 359–361, 1978, doi: 10.1159/000148958.
- 8 H. F. Clark, "Rabies serogroup viruses in neuroblastoma cells: propagation, 'autointerference,' and apparently random back-mutation of attenuated viruses to the virulent state.," *Infect. Immun.* 27:1012-1022., vol. 27, pp. 1012-1022., 1980.
- 9 O. P. Larghi, A. E. Nebel, L. Lazaro, and V. L. Savy, "Sensitivity of BHK 21 cells supplemented with diethylaminoethyl dextran for detection of street rabies virus in saliva samples," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 1, no. 3, pp. 243–245, 1975, doi: 10.1128/jcm.1.3.243-245.1975.
- 10 J. U. Umoh and D. C. Blenden, "Comparison of primary skunk brain and kidney and raccoon kidney cells with established cell lines for isolation and propagation of street rabies virus," *Infect. Immun.*, vol. 41, no. 3, pp. 1370–1372, 1983, doi: 10.1128/iai.41.3.1370-1372.1983.
- 11 R. J. Rudd and C. V. Trimarchi, "Comparison of sensitivity of BHK-21 and murine neuroblastoma cells in the isolation of a street strain rabies virus," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 25, no. 8, pp. 1456–1458, 1987, doi: 10.1128/jcm.25.8.1456-1458.1987.
- 12 OIE, "Rabies," in *OIE Terrestrial Manual*, 2008, pp. 304–323.
- 13 W. A. Webster, G. A. Casey, and K. M. Charlton, "The mouse inoculation test in rabies diagnosis: early diagnosis in mice during the incubation period," *Can. J. Comp. Med.*, vol. 40, no. 3, pp. 322–325, 1976.
- 14 Barrat J& Aubert M.F.A, "Diagnostic de la rage animale en France de 1991 à 1993, bilan de CNEVA laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages en France," *Rev. Méd. Vét.*, vol. 146, pp. 561– 566, 1995.
- 15 G. N. K. Mahardika *et al.*, "Phylogenetic analysis and victim contact tracing of rabies virus from humans and dogs in Bali, Indonesia," *Epidemiol. Infect.*, vol. 142, no. 6, pp. 1146–1154, 2014, doi: 10.1017/S0950268813002021.