

EPIDEMIOLOGI MOLEKULER RABIES DI PULAU SUMBAWA, PROVINSI NUSA TENGGARA BARAT

I Nyoman Dibia¹, Rosmalina Sari Dewi Daulay² dan I Wayan Masa Tenaya¹

¹Balai Besar Veteriner Denpasar, ²Pusat Veteriner Farma Surabaya.
E-mail: dibiadic@yahoo.com

ABSTRAK

Kasus rabies di Pulau Sumbawa pertama kali dilaporkan pada 15 Januari 2019 di Kabupaten Dompus. Asal mula virus yang menyebabkan wabah rabies hingga saat ini masih misteri. Tujuan dari kajian ini adalah untuk mengetahui hubungan kekerabatan virus rabies di Pulau Sumbawa dengan data virus rabies di *GenBank* dari beberapa daerah tertular. Empat sampel otak anjing yang positif terinfeksi virus rabies diperoleh dari Kabupaten Dompus dan Kabupaten Sumbawa. Sampel otak diekstraksi dan *Ribonucleic acid* (RNA) virus diisolasi menggunakan kit (Invitrogen). RNA virus selanjutnya di amplifikasi menggunakan *one-step reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Produk RT-PCR (1215bp) disekuensing dan dianalisis. Sekuen nukleotida fragmen gen penyandi nukleoprotein (N) disejajarkan dengan menggunakan program Clustal W. Pohon filogenetik dikonstruksi dengan mengaplikasikan *Kimura-Two Parameter Model* dalam MEGA X. Hasil analisis menunjukkan bahwa virus rabies di Pulau Sumbawa terkonfirmasi sebagai virus genotipe 1 dari *Lyssavirus*, dan berada dalam klaster Indonesia. Sekuen nukleotida gen penyandi nukleoprotein diantara virus rabies di Pulau Sumbawa memiliki kesamaan 100%. Hal ini mengindikasikan bahwa virus rabies yang masuk ke Pulau Sumbawa merupakan introduksi tunggal dan berasal dari salah satu daerah endemis rabies di Indonesia. Virus rabies di Pulau Sumbawa memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan virus rabies asal Bali dengan kesamaan 99,9-100%, sedangkan dengan virus rabies Sulawesi, Flores, Kalimantan, Jawa dan Sumatra memiliki kesamaan yang lebih rendah, secara berturut-turut adalah 98%, 97,5%, 97,5%, 96,6-96,9% dan 96,2-96,8%. Hasil analisis filogenetik membuktikan bahwa virus rabies di Bali ditularkan ke Pulau Sumbawa, dan mengindikasikan adanya transportasi hewan penular rabies (HPR) dalam masa inkubasi sebagai akibat dari aktivitas manusia. Untuk itu, beberapa kemungkinan jalur masuknya HPR ke Pulau Sumbawa perlu dikaji lebih lanjut.

PENDAHULUAN

Rabies merupakan penyakit hewan menular yang bersifat zoonosis, dengan gejala saraf dan hampir selalu berakhir dengan kematian (Yang *et al.*, 2013). Penyebab rabies adalah virus rabies (Sudarshan *et al.*, 2013) yang termasuk dalam genus *Lyssavirus* dari famili *Rhabdoviridae* (Muleya *et al.*, 2012). Materi genetik virus rabies adalah *single stranded ribonucleic acid* (ss RNA) (Dorfmeier *et al.*, 2013). Genom virus rabies berukuran sekitar 12 kilobase (kb) (Yu *et al.*, 2012) yakni 11.932 nukleotida untuk strain virus Pasteur (Wunner, 2007) dan mengandung lima gen yang menyandi nukleoprotein (N), phosphoprotein (P), matrik protein (M), glikoprotein (G), dan *RNA dependent RNA polymerase* atau *large protein* (L) (Ito *et al.*, 2001; Sugiyama and Ito, 2007; Wunner, 2007).

Di Indonesia, rabies memiliki kecenderungan terus menyebar ke pulau lain yang sebelumnya berstatus bebas. Sebelum tahun 2019, Pulau Sumbawa secara historis dikenal sebagai kawasan yang bebas rabies. Kasus rabies di Pulau Sumbawa hasil konfirmasi laboratorium pertama kali dilaporkan terjadi di Desa Anamina, Kecamatan Manggelewa, Kabupaten Dompus pada 15 Januari 2019. Dalam kurun waktu kurang dari satu bulan, kasus rabies juga dilaporkan terjadi

di Desa Labuan Aji, Kecamatan Tarano, Kabupaten Sumbawa. Hingga saat ini, sumber penularan virus rabies di Pulau Sumbawa belum dapat diketahui secara pasti. Informasi genetik sangat bermanfaat dalam merekonstruksi hubungan kekerabatan diantara virus-virus rabies sehingga dapat digunakan untuk menyidik secara akurat asal mula virus rabies yang menyebabkan wabah dan menyebar di Pulau Sumbawa. Untuk itu, kajian berbasis molekuler untuk mengetahui hubungan kekerabatan virus rabies penyebab wabah di Pulau Sumbawa perlu dilakukan.

TUJUAN

Tujuan kajian ini adalah mengetahui hubungan kekerabatan antara virus rabies yang menyebabkan wabah di Pulau Sumbawa dengan virus-virus rabies di Indonesia dan di beberapa negara di dunia berdasarkan sekuen fragmen gen penyandi nukleoprotein virus rabies.

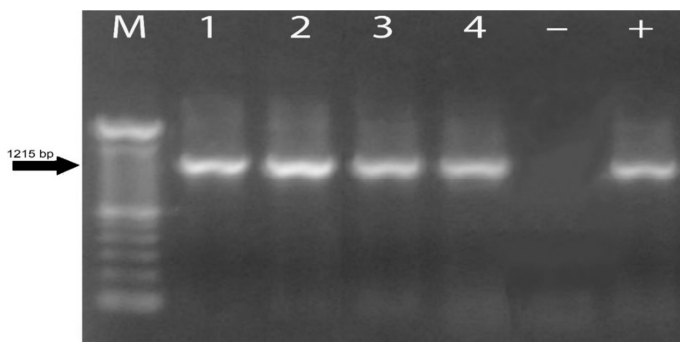
MATERI DAN METODE

Empat sampel otak anjing dari kasus rabies di Kabupaten Dompu dan Kabupaten Sumbawa, Provinsi Nusa Tenggara Barat tahun 2019 yang telah dikonfirmasi positif rabies berdasarkan *direct fluorescent antibody test* (dFAT) di BBVet Denpasar dibuat suspensi 20 % dalam PBS pH 7,4 dan diinaktivasi dengan SDS (450 µl suspensi otak 20% ditambahkan 50 µl SDS 10%). Isolasi RNA dilakukan dengan menggunakan PureLink Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen), sesuai dengan petunjuk produsen. Fragmen gen penyandi nukleoprotein diamplifikasi menggunakan metode *one-step reverse transcription and polymerase chain reaction* (RT-PCR). Pasangan primer yang digunakan didesain Dibia (2014), berdasarkan sekuens gen penyandi nucleoprotein (N) dari genom virus rabies yang diunduh dari *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes>). Pasangan primer yang digunakan NF36(C/T) (forward primer) (5'-TCAGGTGGTCTCYTTGAAGCC-3') dan NR1251 (reverse primer) (5'-CTTTAGTCGACCT CCGTTCA-3'). *Thermocycler* diprogram pada kondisi *reverse transcription* dengan suhu 50°C selama satu jam, denaturasi awal 95°C selama 45 detik dan 40 siklus amplifikasi dengan kondisi denaturasi 94°C selama 45 detik, *annealing* 52°C selama 45 detik, dan ekstensi selama 1 menit. Pada bagian akhir reaksi dilakukan ekstra ekstensi pada suhu 72 °C selama 5 menit untuk memberikan kesempatan sintesis secara sempurna. Produk PCR yang diperoleh divisualisasi dengan teknik elektroforesis menggunakan *agarose* konsentrasi 2% (1 g *ultrapure agarose* (Invitrogen) dalam 50 ml TAE 1x) yang ditambahkan *ethidium bromide* sebanyak 2,5 µl. Mesin elektroforesis diprogram dengan tegangan 100 Volt selama 25 menit. Visualisasi DNA dilakukan dengan *transilluminator ultraviolet* (UV) dan hasilnya didokumentasikan menggunakan kamera digital. Produk PCR yang menunjukkan pita yang tajam dan pada posisi 1215 bp dikirim ke Pusat Veteriner Farma Surabaya, untuk disekuensing dengan menggunakan Automatic DNA sequencer 3130 (Applied Biosystem).

Selanjutnya, data nukleotida hasil sekuensing dikonfirmasi dengan program *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Kumar *et al.*, 2004) untuk menunjukkan bahwa sekuens yang diperoleh adalah sekuens khas dari fragmen gen nukleoprotein (N) virus rabies. Sekuens nukleotida pada kajian ini, diujarkannya dengan berbagai sekuens nukleotida virus rabies di Indonesia dan di beberapa negara yang diakses pada *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes>). Program peninjauan yang digunakan adalah *ClustalW* (Tompson *et al.*, 1994). Nomor akses *GenBank* dari sekuens nukleotida virus rabies yang dianalisis ditampilkan pada pohon filogenetik. Konstruksi pohon filogenetik dianalisis dengan metode *Neighbour-Joining* (Saitou and Nei, 1987). Persentase replikasi pohon filogenetik pada taksa yang membentuk kelompok di setiap percabangan dihitung menggunakan uji *bootstrap* dengan 1000 ulangan dan diperlihatkan dekat cabang (Felsenstein, 1985). Nilai *bootstrap* >70% adalah signifikan (Durr *et al.*, 2008) sebagai *confidence limits*. Garis horizontal menunjukkan derajat perbedaan nukleotida. Jarak genetik diantara *nodes* adalah sebanding dengan panjangnya cabang. Kalkulasi jarak genetik dilakukan dengan menggunakan *Kimura's Two-Parameter Model*. Analisis epidemiologi molekuler dilakukan berdasarkan data sekuens gen penyandi nukleoprotein menggunakan program MEGA X untuk mendapatkan gambaran hubungan kekerabatan virus.

HASIL

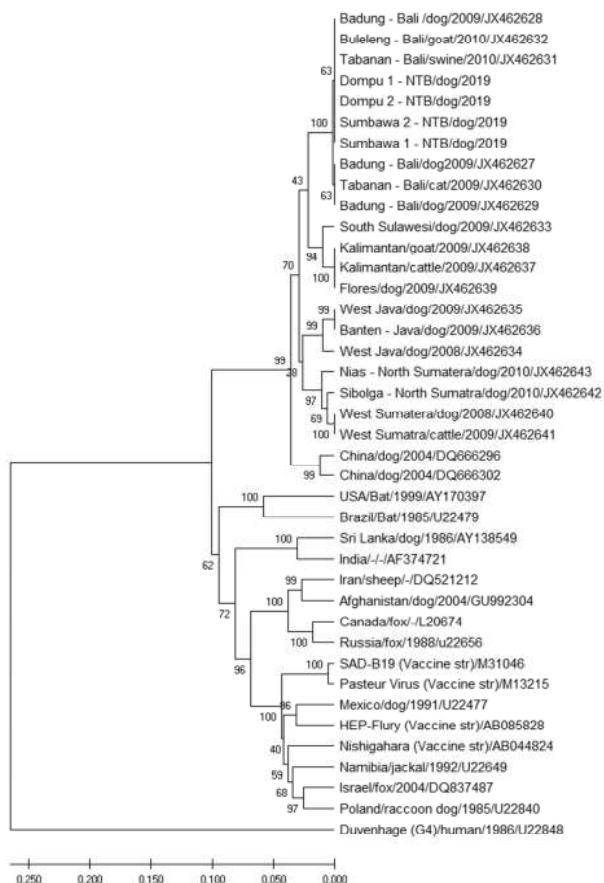
Empat sampel otak hewan yang positif rabies berdasarkan dFAT berhasil diamplifikasi menggunakan metode RT-PCR. Hasil elektroforesis produk RT-PCR tersebut berupa pita DNA berukuran 1215 bp, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk RT-PCR, M= *Marker* (DNA ladder 100bp), (+) = Kontrol positif, (-) = Kontrol negatif, Lajur 1-2 = Sampel virus rabies Kabupaten Dompu, Lajur 3-4 = Sampel virus rabies Kabupaten Sumbawa. Tanda panah menunjukkan produk RT-PCR spesifik pada posisi 1215 bp.

Sekuensing terhadap empat produk RT-PCR menunjukkan sebanyak empat sekuens cDNA dapat di baca dengan baik dengan panjang 1004-1147 bp. Analisis BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) pada kajian ini menunjukkan bahwa sekuen nukleotida yang diperoleh adalah spesifik untuk gen N virus rabies. Sekuen nukleotida (cDNA) virus rabies ini, selanjutnya akan diajukan ke *GenBank* untuk dipublikasi di *public DNA database*. Jarak genetik dari empat sekuen fragmen gen nucleoprotein virus rabies di Pulau Sumbawa, ditunjukkan pada Tabel 1.

Hubungan kekerabatan virus rabies dari kasus pada hewan tahun 2019 di Pulau Sumbawa dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida gen N dari empat sekuens nukleotida virus rabies yang dikaji. Secara bersama-sama dianalisis pula sekuens nukleotida virus rabies yang diakses di *GenBank* yaitu sebanyak 14 sekuens nukleotida dari negara-negara lain dan empat strain vaksin serta virus Duvenhage (Genotipe 4) sebagai *out group taxa*, ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pohon filogenetik berdasarkan sekuen nukleotida dari gen N virus rabies.

Tabel 1. Jarak genetik empat sekuen fragmen gen nukleoprotein virus rabies di Pulau Sumbawa dan beberapa daerah endemis rabies di Indonesia.

No	Rabies Virus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	Sumbawa 2 - NTB/dog/2019																					
2	Sumbawa 1 - NTB/dog/2019	0,000																				
3	Dompu 2 - NTB/dog/2019	0,000	0,000																			
4	Dompu 1 - NTB/dog/2019	0,000	0,000	0,000																		
5	Badung - Bali/dog/2009/JX462627	0,001	0,001	0,001	0,001																	
6	Tabanan - Bali/cat/2009/JX462630	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000																
7	Badung - Bali/dog/2009/JX462629	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000															
8	Tabanan - Bali/swine/2010/JX462631	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001														
9	Badung - Bali /dog/2009/JX462628	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000													
10	Buleleng - Bali/goat/2010/JX462632	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000												
11	South Sulawesi/dog/2009/JX462633	0,020	0,020	0,020	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020	0,020	0,020											
12	Kalimantan/goat/2009/JX462638	0,025	0,025	0,025	0,025	0,026	0,026	0,026	0,025	0,025	0,025	0,010										
13	Kalimantan/cattle/2009/JX462637	0,025	0,025	0,025	0,025	0,026	0,026	0,026	0,025	0,025	0,025	0,010	0,000									
14	Flores/dog/2009/JX462639	0,025	0,025	0,025	0,025	0,026	0,026	0,026	0,025	0,025	0,025	0,010	0,000	0,000								
15	West Java/dog/2009/JX462635	0,034	0,034	0,034	0,034	0,035	0,035	0,035	0,034	0,034	0,034	0,027	0,026	0,026	0,026							
16	Banten - Java/dog/2009/JX462636	0,034	0,034	0,034	0,034	0,035	0,035	0,035	0,034	0,034	0,034	0,027	0,026	0,026	0,026	0,000						
17	West Java/dog/2008/JX462634	0,031	0,031	0,031	0,031	0,032	0,032	0,032	0,031	0,031	0,031	0,027	0,026	0,026	0,026	0,010	0,010					
18	Nias - North Sumatra/dog/2010/JX462643	0,032	0,032	0,032	0,032	0,034	0,034	0,034	0,032	0,032	0,032	0,025	0,026	0,026	0,026	0,032	0,032	0,032				
19	Sibolga - North Sumatra/dog/2010/JX462642	0,034	0,034	0,034	0,034	0,035	0,035	0,035	0,034	0,034	0,034	0,021	0,022	0,022	0,022	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
20	West Sumatra/dog/2008/JX462640	0,038	0,038	0,038	0,038	0,040	0,040	0,040	0,038	0,038	0,038	0,025	0,027	0,027	0,027	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	0,006
21	West Sumatra/cattle/2009/JX462641	0,038	0,038	0,038	0,038	0,040	0,040	0,040	0,038	0,038	0,038	0,025	0,027	0,027	0,027	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	0,006

Virus-virus penyebab wabah rabies di Pulau Sumbawa berkerabat dekat dengan isolat-isolat rabies di Bali dengan dukungan nilai *bootstrap* sebesar 100%, dengan tingkat homologi nukleotida 99,9-100%,

PEMBAHASAN

Rekonstruksi filogenetik dapat digunakan untuk mendukung data kejadian kasus di lapangan dalam menentukan epidemiologi penyebaran virus rabies. Informasi asal mula masuknya rabies ke suatu daerah merupakan bagian integral dari pengendalian rabies. Hal ini sangat mendasar untuk mengklarifikasi asal mula virus rabies yang menyebabkan wabah di Pulau Sumbawa tahun 2019. Susetya *et al.*, (2008) mengatakan bahwa hubungan filogenetik diantara virus-virus rabies dapat dibedakan lebih akurat berdasarkan sekuen nukleotida gen penyandi nukleoprotein dibandingkan dengan menggunakan antibodi monoklonal atau metode konvensional lainnya. Analisis genetik untuk mengetahui hubungan kekerabatan virus rabies di Indonesia menggunakan sekuen nukleotida gen N telah banyak diteliti, diantaranya oleh Smith *et al.*, (1992), Sugiana dan Ito (2007), Susetya *et al.*, (2008) dan Dibia (2014).

Hubungan kekerabatan virus rabies di Pulau Sumbawa dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida gen N dari empat sekuens nukleotida virus rabies dari empat kasus di Pulau Sumbawa. Secara bersama-sama dianalisis pula sekuens nukleotida virus rabies yang diakses di *GenBank* yaitu sebanyak 14 sekuens nukleotida dari negara-negara lain dan empat strain vaksin serta virus Duvenhage (Genotipe 4) sebagai *out group taxa*, ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil ini mempertegas bahwa virus rabies penyebab wabah di Pulau Sumbawa termasuk dalam *Lyssavirus* Genotipe 1, yang dikenal sebagai virus rabies klasik pada mamalia di seluruh dunia (David *et al.*, 2007). Analisis genetik virus rabies Pulau Sumbawa dan virus-virus lapangan (*street virus*) dari Indonesia dan beberapa negara di dunia menunjukkan bahwa semua virus rabies di Pulau Sumbawa berada dalam klaster Indonesia. Sekuen nukleotida gen penyandi nukleoprotein diantara virus rabies di Pulau Sumbawa memiliki homologi 100%. Hal ini mengindikasikan bahwa masuknya virus rabies ke Pulau Sumbawa sebagai introduksi tunggal dan berasal dari salah satu daerah endemis rabies di Indonesia. Virus rabies di Pulau Sumbawa memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan virus rabies asal Bali (JX462628, JX462632, JX462631, JX462627, JX462630, dan JX462629) dengan dukungan *bootstrap* 100% dan nilai *similarity* 99,9-100%, sedangkan dengan virus rabies Sulawesi (JX462633), Flores (JX462639), Kalimantan (JX462637 dan JX462638), Jawa (JX462634, JX462635, dan JX462636) dan Sumatra (JX462643, JX462642, JX462640, dan JX462641) memiliki kesamaan yang lebih rendah yakni secara berturut-turut 98%, 97,5%, 97,5%, 96,6-96,9% dan 96,2-96,8%. Sementara, terhadap isolat-isolat virus rabies dari China (DQ666296), India (AF374721), Sri Lanka (AY138549), USA (AY170397), Afghanistan (GU992304) dan vaksin strain Pasteur (M13215) adalah lebih rendah (91,0-96,6%) dan tingkat homologi

nukleotida terhadap virus Duvenhage Genotipe 4 (U22848) menjadi sangat rendah (76,3-76,5%). Analisis filogenetik membuktikan bahwa virus rabies di Bali ditularkan ke Pulau Sumbawa, dan mengindikasikan adanya transportasi hewan penular rabies (HPR) dalam masa inkubasi sebagai akibat dari intervensi manusia. Hasil ini menginspirasi bahwa sebagai negara kepulauan, pemerintah harus meningkatkan kesiapsiagaan untuk mengantisipasi kemungkinan peristiwa yang sama terjadi pada masa-masa yang akan datang. Kepedulian masyarakat juga terus menerus dibangkitkan terutama di pulau-pulau tetangga yang tidak memiliki pengalaman dengan rabies.

KESIMPULAN

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa virus rabies di Pulau Sumbawa terkonfirmasi sebagai Lyssavirus Genotipe 1 dan berada dalam klaster Indonesia. Sekuen nukleotida gen penyandi nukleoprotein diantara virus rabies di Pulau Sumbawa memiliki kesamaan 100%, yang mengindikasikan bahwa virus rabies yang masuk ke Pulau Sumbawa merupakan introduksi tunggal. Virus rabies di Pulau Sumbawa memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan virus rabies asal Bali dengan kesamaan 99,9-100% dan membuktikan bahwa virus rabies di Pulau Sumbawa ditularkan dari Bali.

SARAN

Beberapa kemungkinan jalur masuknya HPR ke Pulau Sumbawa juga perlu dikaji, dengan harapan dapat membantu kegiatan pengendalian dan strategi pemberantasan rabies yang sedang dilaksanakan di Pulau Sumbawa menjadi lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- David, D., Hughes, G. J., Yakobson, B. A., Davidson, I., Un, H., Aylan, O., Kuzmin, I. V., and Rupprecht, C. E., 2007. Identification of novel canine rabies virus clades in the Middle East and North Africa. *J. Gen. Virol.* 88: 967-980.
- Dibia, N., 2014. Kajian epidemiologi rabies di Bali dalam meningkatkan program pengendaliannya. Disertasi. Program Doktor Sain Veteriner Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Dorfmeier, C. L., Tzvetkov, E. P., Gatt, A., and McGettigan, J. P., 2013. Investigating the Role for IL-21 in Rabies Virus Vaccine-induced Immunity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 7(3): e2129.

- Dürr, S., Naïssengar, S., Mindekem, R., Diguimbye, C., Niezgodá, M., Kuzmin, I., Rupprecht, C. E., and Zinsstag, J., 2008. Rabies Diagnosis for Developing Countries. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2(3): e206. doi:10.1371/journal.pntd.0000206.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limit on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evol.* 39(4): 783-791.
- Ito, N., Kakemizu, M., Ito, K. A., Yamamoto, A., Yoshida, Y., Sugiyama, M., and Minamoto, N., 2001. A comparison of complete genom sequences of the attenuated RC-HL strain of rabies virus used for production of animal vaccine in Japan, and the parental Nishigahara strain. *Microbiol. Immunol.* 45: 51-58.
- Kumar, S., Tamura, K., and Nei, M., 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetic Analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.* 5(2): 150-163.
- Muleya, W., Namangala, B., Mweene, A., Zulu, L., Fandamu, P., Banda, D., Kimura, T., Sawa, H. and Ishii., A. 2012. Molecular epidemiology and a loop-mediated isothermal amplification method for diagnosis of infection with rabies virus in Zambia. *Virus Res.* 163: 160-168.
- Saitou, N., and Nei, M., 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4(4): 406-425.
- Smith, J. S., Orciari, L. A., Yager, P. A., Seidel, H. D., and Warner, C. K., 1992. Epidemiologic and historical relationships among 87 rabies virus isolates as determined by limited sequence analysis. *T. J. Infect. Dis.* 166: 296-307.
- Sudarshan, M. K., Ashwath Narayana, D. H., Ramesh Masthi, N. R., Satyanarayana M. L., Kulkarni, P., Madhusudana S. N., Ramakrishna B. C., and Gangaboraiah, 2013. Rural Rabies Prevention Project - A 'One Health' Experiment in India: An Overview. *J. Trop. Dis. Health* 3(2): 104-113.
- Sugiyama, M., and Ito, N., 2007. Control of rabies: epidemiology of rabies in Asia and development of new generation vaccines for rabies. *Comp. Immunol. Microbiol. Inf. Dis.* 30: 273-286.
- Susetya, H., Sugiyama, M., Inagaki, A., Ito, N., Mudiarto, G., and Minamoto, N., 2008. Molecular epidemiology of rabies in Indonesia. *Virus Res.* 135: 144-149.

- Thompson, J. D., Higgins, D. G., and Gibson, T. J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22(22): 4673-4680.
- Wunner, W. H., 2007. Rabies Virus. In: Jackson, A. C., and Wunner, W. H., (ed.). Rabies. Second edition. USA: Elsevier Inc.: 23-68.
- Yang, D. K., Kim, H. H., Lee, K. W., and Song, J. Y., 2013. The present and future of rabies vaccine in animals. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2(1): 19-25.
- Yu, F., Zhang, G., Xiao, S., Fang, L., Xu, G., Yan, J., Chen, H., and Fu, Z. F., 2012. Complete Genome Sequence of a Street Rabies Virus Isolated from a Rabid Dog in China. *J. Virol.* 86(19): 10890-10891.