

N.º 105
R.F.J.

"AVANCES EN LA INVESTIGACION RABICA EN LA
ESPECIE CANINA ALCANZADOS EN EL PERIODO
COMPRENDIDO DE 1980-1991"

RAFAEL FRANCISCO HACES RODRIGUEZ
ASESOR: M.V.Z. RICARDO MORENO CHAN.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1992



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
ETIOLOGIA	5
EPIZOOTIOLOGIA	7
PATOGENESIS	8
PATOLOGIA	9
SIGNOS CLINICOS	11
DIAGNOSTICO	12
PRONOSTICO	16
TRATAMIENTO	16
PROFILAXIS	17
ASPECTOS DE SALUD Y SALUBRIDAD PUBLICA	31
CONCLUSIONES	33
LITERATURA CITADA	34

I.- RESUMEN:

Haces Rodríguez Rafael Francisco. "Avances en la Investigación Rábica en la Especie Canina Alcanzados en el Período comprendido de 1980-1991". (Bajo la asesoría de: Dr. Ricardo Moreno Chan).

La finalidad de este trabajo es presentar información reciente, relevante y condensada relacionada con la rabia canina.

Para este fin se analizó información de libros, revistas y memorias publicadas en el período 1980-1991.

En el trabajo se revisan los siguientes puntos: Introducción, etiología, epizootiología, patogénesis, patología, signos clínicos, diagnóstico, pronóstico, tratamiento, profilaxis, aspectos de salud y salubridad pública, conclusiones y literatura citada.

II.- INTRODUCCION:

Sinonimias.

Hidrofobia, Derriengue, Derriengado, Tronchado, Tollwut y Wut (alemán), Le Ragé (Francés), Rabies (inglés), Lyssa (6)(55).

Definición.

La rabia es una enfermedad infecciosa aguda, mortal, producida por un virus y que afecta principalmente al sistema nervioso central con aumento en la excitabilidad nerviosa, trastornos en la conciencia y síntomas paralíticos y que se transmite más frecuentemente por la mordedura de un animal rabioso (6).

En México durante el periodo 1971-1972 y 1974-1975, los animales agresores que produjeron casos de rabia humana fueron: el perro 87%, los quirópteros 6.5% y otras especies 6.5% (6).

Entre las zoonosis de mayor importancia en materia de salud pública para el Distrito Federal, destaca la rabia, por su gran letalidad y el alto número de perros sin dueño que pueden transmitirla. En la década 1970-80, la población canina estimada en la Cd. de México era de 1' 710, 705 perros, lo que dió lugar a un gran número de personas agredidas por perros. En promedio al día se vacunaban 536 personas contra la rabia, por lo anterior se confirma que el perro sigue siendo el principal transmisor de la rabia en zonas urbanas (47).

En México la incidencia de rabia en los años 1975-85 registró 1,877 casos diagnosticados en laboratorio con un promedio de 188 casos/año (6).

México reportó en el primer semestre de 1987, 32 casos de rabia humana y 5,839 casos de rabia canina (13).

La información sobre accidentes post-vacunales por parte de los servicios de salud en la región de las Américas ha sido muy baja, sin embargo se considera muy posible un incremento toda vez que de cada 27,000 dosis de vacunas de cerebro de ratón lactante aplicadas, se acepta la presentación de un accidente post-vacunal, con esta vacuna de uso común en Latinoamérica (13). México reportó 7 accidentes postvacunales en Brasil 4, para un total de 11 casos durante el primer semestre de 1987 (13).

Eurasia, se considera como una región donde la rabia es endémica (6).

El tipo de infección rábica prevaliente en Asia es la canina, donde el perro es el principal reservorio y vector de la rabia urbana, en tanto que en Europa el tipo de rabia se centra en la rabia Vulpina o de la zorra Roja (9).

En algunas repúblicas de la ex-Unión Soviética y Yugoslavia coexisten los dos tipos de rabia: la canina y la vulpina (9).

En Eurasia el número de cepas virales rábicas es reducido y pertenecen al serotipo 1 (CVS) (9). El perro (Canis familiaris) es el principal vector de la rabia en los continentes americano y asiático y parte del sur de Europa (9).

Algunos países asiáticos como Japón, Taiwán y ciertas regiones de Indonesia y las Filipinas, además de la Península de Malasia están libres de la rabia debido a las medidas zoonitarias que se siguen en estos países, como por ejemplo la vacunación antirrábica anual en el caso de Japón y un estricto control de la especie canina como el que se aplica en Taiwán (9).

Los países europeos que están libres de rabia, han aplicado rigurosas medidas de control zosanitario, incluyendo la vacunación, el control de la población canina y la eliminación de perros sin dueño quedando aún por resolver la mortalidad de la rabia vulpina (9).

Aspectos Históricos Importantes:

Uno de los registros históricos más antiguos sobre la infección rábica, es el Código Babilonio de Eshnunna escrito 2300 años a.c. que registró la transmisión de la rabia por la mordedura de un perro infectado a las personas (55).

En antiguos escritos chinos se registró la presencia de la rabia canina siglos a.c. (61).

2000 años a.c., las comunidades cercanas a las márgenes de los ríos: Nilo, Eufrates e Indo conocían la rabia y la consideraban de origen divino (51).

Plutarco, asevera de acuerdo con Atenodor, que esta enfermedad fue observada por primera vez en la época de los asclepiadeos, que se consideraban descendientes del dios de la Medicina (5)(43).

Virgilio, Horacio y Ovidio también escribieron acerca de la rabia (6)

Celso en el siglo I a.c. hizo por primera vez una descripción fiel de la rabia a la que denominó hidrofobia y aconsejó como medidas preventivas el lavado y cauterización de las heridas hechas por un animal rábido, afirmando que una vez presentes los síntomas de la enfermedad no hay recuperación (2)(5)(33)(51)(61).

Aristóteles 332 años a.c., registró la transmisión de la enfermedad por la mordedura de perros infectados a otros canes (6)(61).

Demócrito 550 años a.c., describió la rabia en perros y animales domésticos (2)(6)(51).

Gardano, escritor romano, describe la infecciosidad de la saliva de perros rabiosos. Los romanos describieron al material infeccioso como un veneno usando la palabra latina "virus" (51).

Aetio, médico de Mesopotamia, describió la rabia en el perro.

Escribió que el perro deja de ladrar, delira, desconoce a su amo y su ambiente, no come, tiene sed, no bebe, jadea, respira con dificultad con el hocico abierto y la lengua colgante, la saliva es espumosa, las orejas y cola están colgantes, se mueve lento y torpe, presenta somnolencia y corre con más rapidez (51).

Soranus de Efeso (I-II siglo d.c.) en un capítulo dedicado a la hidrofobia sugería que el sistema nervioso estaba involucrado en la patogénesis de la rabia (61).

Vegetius en su libro "Ars Veterinaria" presentó un antídoto para aplicar al ganado mordido por un perro rabioso (61).

Galeno hacia el final del siglo II a.c. creyó que sólo la especie canina era, en forma natural, susceptible de contraer la rabia y que la enfermedad corrompía sus humores (61).

Pablo de Egina en el siglo VII escribió detalladas descripciones sobre la infección rábica en el hombre y el perro, "porque esos animales son domésticos y numerosos y son frecuentemente afectados de locura. También propuso el uso de "Elleboro Blanco" (Veratro) en antídotos contra la rabia. Además observó el enrojecimiento de todo el cuerpo, especialmente en la cara, después de contraída la enfermedad, al igual que Avicena lo describió en el siglo XI (61).

No se conocen escritos relativos a la rabia realizados en la edad media (22).

Durante el siglo XV ya se conocía la rabia en España e Inglaterra (6).

Jerónimo de Fracastoro en el siglo XVI en su obra "De Contagione", afirmó que la rabia no se contrae por ningún contacto, ni por fomites ni a distancia, "sino cuando la piel ha sido rota por la mordedura de un perro y de la cual salga sangre" (33).

Se acepta que la rabia no existía en el continente americano antes de que llegaran los conquistadores españoles, sin embargo hay referencias indirectas sobre la rabia en la "Crónica de la Conquista del Darién", de Fernández y Oviedo (1514) y en la "Historia del Descubrimiento y Conquista de Yucatán" de Juan Francisco Molina Solís (1527), donde se menciona el ataque de vampiros a hombres y animales, presentándose posteriormente la enfermedad (6).

Bauhin (1591) en su "Memorabilis historia luporum aliquot rabidorum" habla de la transmisión de la rabia al hombre por los lobos (22).

En el libro "Philosophical Transactions" de la Royal Society (Reino Unido) se encuentran reportes sobre la rabia hasta 1660. En esta obra Martin Lister (¿1638?-1712) escribió sobre la rabia, señalando al perro como el principal transmisor de esta zoonosis (61).

Robert Boyle (1627-1691) escribió en 1666 sobre los efectos del agua de mar, especialmente en pacientes enfermos de hidrofobia (61).

Aldrovanus en 1681, prevenía, contra la ingestión de estiércol de murciélago, su lengua o corazón porque producían horror al agua y la muerte (6).

En los Anales de la Santa Inquisición, se encuentra la referencia más antigua de la rabia en México (1709) (6).

En el año 1719 aparecen los primeros registros de la rabia en las Antillas y en 1741 en Barbados. En 1753 en los E.U. (6).

Perú, en el año de 1803 padece de una violenta epidemia, en la que, sólo en la Cd. de Ica, murieron 42 personas (6) (22).

Argentina en 1806 sufrió la infección rábica, originada por perros cazadores procedentes de Inglaterra (6).

Zinke, en 1804, demostró por primera vez que la rabia se transmite por la saliva; en su experiencia tomó ésta de un perro rabioso, inmediatamente después de su muerte, y mediante una brocha, la aplicó a incisiones, previamente hechas, en un perro Dashound de un año de edad, y hasta 7 días después de la inoculación, el perro siguió su vida normal, pero al octavo día dejó de comer, no bebía, estaba triste y se arrinconó en su jaula, al décimo día el perro tenía rabia (2) (33) (51).

Krugelstein informó en 1826, de todas las fases de la rabia, consideró que el agente causal estaba en la saliva, -como ya había demostrado Zinke en 1804- y dijo que la enfermedad afectaba sin duda el sistema nervioso y si cualquier terminación nerviosa es infectada con el veneno de la saliva, enferma locamente y envía el veneno a través de los nervios simpáticos hasta alcanzar el plexo celíaco, afectando a todo el sistema nervioso y que de aquí se propaga a la médula espinal (33) (53).

Hertwig (1828) publicó su trabajo "Beiträge zur näheren Kenntnis der Wutkrankheit (Contribución para un estudio detallado de la rabia) con diversos ensayos relativos a la transmisión de la infección rábica (22).

En 1854 Virchow, llamó la atención sobre las infundadas suposiciones de que aún a pesar de haberse demostrado las características infecciosas de la rabia, se tendía, generalmente a pensar que la rabia evolucionaba de manera espontánea y se atribuía especialmente su presentación al excesivo calor, a la carencia de actividad sexual,

a la falta de agua, a la excitación nerviosa, a la ira, al celo o alimentación excesiva (22).

En Cabo San Lucas, B.C., México, se detectaron casos de rabia en el sorcillo manchado en 1870 (6).

Galtier entre los años 1879-1881, realizó diversos experimentos sobre la rabia, utilizando conejos con la finalidad de encontrar "un agente capaz de neutralizar el virus de la rabia después que éste se ha adsorbido y para prevenir el desarrollo clínico de la enfermedad". Dentro de sus experimentos se encuentra la inmunización de una oveja contra la rabia, inoculando directamente por la vena yugular saliva infectada (2)(61).

Pasteur en 1881 presentó ante la Sociedad de Medicina Veterinaria de Francia un trabajo titulado "Experiencia hechas con la saliva de un niño infectado muerto de rabia" en el que informó de sus experimentos sobre humanos, cuyes y gallinas y encontró que el periodo de incubación de la rabia canina era muy amplio (22)(33).

El mismo año Pasteur, Chamberlain, Roux y Thuillier demuestran que el virus rábico se replica en el sistema nervioso en animales infectados de rabia e inoculan intracerebralmente el material sospechosos, con el fin de reproducir la enfermedad (2)(33)(51).

En 1884, Pasteur, presentó un informe donde comunicó que la inoculación del virus rábico por vía intravenosa producía la rabia en forma paralítica y que los perros sacrificados a los primeros síntomas de parálisis contenían el virus en la médula espinal, pero sin haber signos en el bulbo. También encontró virus en los nervios neumogástrico, ciático y en glándulas salivales (51).

Pasteur en 1885, vacuna por primera vez al hombre, el día 6 de julio, vacunó al joven Joseph Maister, con una vacuna preparada de tejido nervioso (6)(33)(53). En 1885 México se sumó a la conmemoración de los primeros 100 años de la vacunación antirrábica.

En 1887 Divestea y Zagari realizaron una neurotomía en los nervios ciáticos de animales inoculados con el virus de "calle" y los animales no murieron. Este descubrimiento fue reportado también por Talasescu y Fermi (3)(5).

Nagri en 1902 descubrió los corpúsculos que llevan su nombre, principalmente, en los perros muertos de rabia, preferentemente en el asta de Ammón, ganglio y médula espinal (6).

En 1905 se descubre en Perú la rabia en los coyotes (6).

En el año de 1910, el MV. Emilio Fernández, en la Cd. de México, informa por primera vez acerca de la rabia en el hato ganadero nacional (6).

En 1928 se registra el primer caso de rabia transmitida al hombre por el murciélago (6).

El Dr. Téllez Girón en 1938 en México, reprodujo experimentalmente la rabia paralítica, demostrando que la saliva procedente de bovinos infectados contiene el virus (6).

III.- ETIOLOGIA:

El virus de la rabia es un miembro de la familia Rhabdoviridae y del género lyssavirus, junto con el virus del murciélago de Lagos, el Mokola y los de Duvenhage, Obodhiang y el Kotonkan. Los dos últimos sólo se replican en invertebrados artrópodos (6)(19)(26).

Los rhabdovirus se caracterizan por tener un genoma de RNA de una sola cadena de peso molecular de 3-4 x10⁶ daltones, constituyendo cerca del 2% de la partícula (6).

El virus rábico es alargado, con un extremo redondeado y otro plano en forma de bala, que mide 130 a 180 nm x 75 nm. La nucleocápsida contiene 96% de proteínas y 4% de ácido ribonucleico. La nucleocápside del virus está compuesta por una lipoproteína. Los rhabdovirus constan de una envoltura lipídica que es doble y contiene peplómeros glicoprotéicos alrededor de la nucleocápside (2) (21).

La nucleocápside y tiene simetría helicoidal. Su densidad de flotación en Cl₂ es de 1.20 g/ml. El virión tiene 5 proteínas incluyendo una transcriptasa (L, 190 K), una nucleoproteína (N, 50K), una proteína (M, 29K) y una glicoproteína (G 69K), que forma la superficie de los peplómeros y contiene los epítomos contra los cuales se dirigen los anticuerpos neutralizantes (21). Además el virión contiene 5 grandes proteínas incluyendo un RNA polimerasa dependiente del RNA. La molécula del genoma viral está formada por un cadena de RNA (6) (21) (26) (36) (59).

El virus rábico "fijo" (adaptado a laboratorio) se replica bien en muchos tipos de cultivos celulares como los VERO (células de riñón del mono verde de Africa) para uso humano, células BHK-21 (células de bebé de hámster), que son los medios de cultivo usados para la elaboración de vacunas antirrábicas para animales. Las células y fibroblastos diploides humanos (WI-38, MRC 5) son medios de replicación para vacunas humanas. Las cepas "fijas" y de "calle" del virus rábico se replican con altos títulos, en cerebro de ratón adulto y lactante y en hámster (21).

La transcriptasa viral que está asociada con la nucleocápside inicia la transcripción de 5 sub-especies genómicas del RNAm. La replicación del genoma RNA y las moléculas de nucleoproteína tienen una importante función en la formación de la nucleocápside (21).

La nucleoproteína tiene una disposición tal que protege al RNA de la digestión de las ribonucleasas conservando al genoma RNA en una adecuada configuración para el proceso de transcripción. Dos de las proteínas de la parte central de la nucleocápside son las responsables de la transcripción y replicación del RNA viral, éstas representan menos del 10% del total de proteína viral (62).

La proteína de peso molecular más alto del virión es una glicoproteína (GLP) de 80 000 daltones de peso molecular y con aproximadamente 1783 unidades por virión (26).

Serotipos del virus rábico: Se han considerado los serotipos 1,2,3 y 4, a saber:

Serotipo 1.- Es el virus estándar de confrontación cepa CVS-24, la cual se deriva de la cepa Pasteur, en este serotipo se encuentran la mayoría de las cepas de "calle" que han sido aisladas de perros y gatos y de animales silvestres como las zorras, mofetas y zorrillos. Los virus aislados de vampiros en las Américas están incluidos en este serotipo (27) (36)

En contraste, los estudios referentes a inmunología y patogenicidad de las cepas aisladas dentro del serotipo 1, ha permitido la identificación de "biotipos" totalmente adaptados a una especie en particular como es la zorra, el perro, el mapache, entre otras (9).

Serotipo 2.- El virus de este serotipo es el del murciélagos de Lagos que está relacionado con los de murciélagos insectívoros, frugívoros y no hematófagos. Este virus ha sido aislado de cerebros de

murciélagos Eidolon helvum. El virus resultó ser patógeno para ratones de 21-28 días de edad, en los que se observó extravasación espontánea de sangre y degradación neuronal y no se localizaron corpúsculos de Negri (27) (36).

Serotipo 3.- En este grupo está el virus Mokola que fue aislado en 1968 de musarañas del medio selvático en Nigeria. También se aisló en murciélagos Nyctalus noctula de Yugoslavia. Este virus se encuentra en forma natural en humanos, gatos, perros y roedores y se encuentra distribuido en Nigeria, Camerún, Zimbabwe y la República Central Africana (27) (36).

Los virus mencionados son similares en cuanto a morfogenénesis y morfología. Los virus Obodhiang y Kotonkan se caracterizan por parecer partículas cónicas o coniformes (27) (36).

Serotipo 4.- El virus Duvenhage, fue aislado del vampiro serotino Eptesicus serotinus, siendo aislado por primera vez en 1954 en Yugoslavia, y recientemente se informó su presencia en España en 1987 (27) (36).

III.- EPIZOOTIOLOGIA:

Distribución:

La prevalencia de la rabia canina es mundial, se presenta en todos los climas, afectando a todos los animales de sangre caliente (6) (17).

En México la rabia canina es un problema de salud animal y salud pública y en el medio urbano el principal transmisor es el perro que no tiene dueño (6).

Todos los animales de sangre caliente son susceptibles, con una sensibilidad variada ante la infección. Los más susceptibles son los cánidos de la fauna silvestre, como la zorra, el lobo, el coyote. Los gatos y los bovinos. Son medianamente susceptibles los perros, equinos y primates y menos susceptibles el hombre. También la padecen los ovinos, caprinos, cerdos, gallinas, palomas y de la fauna silvestre, los chacales, las hienas, las martas, los monos, los gamos, los ciervos, los antílopes, los voses, los conejos, los cobayos (6) (22).

Las aves de rapiña aunque en forma natural son susceptibles de contraer la rabia, su resistencia a la infección es alta. Experimentalmente por inoculación intracerebral y con una cepa de virus de "calle" sólo presentaron signos clínicos el 70% de las aves inoculadas, la mortalidad no pasa del 50%, el período de incubación es de 20-40 días. El virus rábico sólo se encuentra en el cerebro de aves muertas. La ausencia de corpúsculos de Negri es frecuente, pero la inmunofluorescencia es positiva. Las aves carecen de valor epidemiológico porque no excretan el virus rábico (6).

Transmisión:

Los hospederos animales que mantienen al virus rábico en la naturaleza son los carnívoros y los quirópteros. Los herbívoros y otros animales no mordedores, los roedores y los lagomorfos no desempeñan ningún papel epidemiológico (1).

El factor más importante en la transmisión de la enfermedad es la presencia del virus en la saliva y las glándulas salivales, especialmente antes de que aparezcan los signos clínicos. Hay pruebas documentales de que la excreción viral por la saliva de perros inoculados con virus de "calle" han eliminado el virus hasta 14 días antes de que aparezcan los signos clínicos (32).

La transmisión de la rabia de perro a perro y de éste al hombre y otro animal, generalmente ocurre por la entrada del virus rábico a través de una herida, causada por la mordedura de un perro infectado. También cuando la saliva infecciosa hace contacto con heridas previas, frescas y abiertas (55).

A nivel experimental ha sido posible la transmisión del virus rábico a insectos, en particular garrapatas, (Rhipicephalus, Ornithodoros, O. moubata, O. Turicata, Dermacentor.) no es muy probable que los ectoparásitos desempeñen un papel importante en la transmisión de la rabia (6).

También a nivel experimental, un perro que fue inoculado con una cepa Etíope virus "calle" y que se recuperó de la enfermedad, estuvo eliminando el virus durante más de 305 días después de su recuperación (32).

V.- PATOGENESIS:

El virus penetra al organismo más frecuentemente mediante una herida causada por una mordedura o laceración infligida por perros infectados de rabia, siendo poco común contraer la infección por inhalación de aerosoles ricos en virus, o por vía digestiva, ingiriendo roedores o restos de animales enfermos o muertos a consecuencia de la rabia (14)(17)(21).

Una vez que el virus rábico ha ingresado al organismo, alcanza las terminaciones nerviosas periféricas, de tal forma que a través de los nervios periféricos localizados en el sitio donde fue inoculado; el virus migra pocas horas después, por el axolema de los nervios hacia el sistema nervioso central, donde se replica. La migración centripeta del virus rábico a través de los nervios periféricos, desde el sitio de inoculación hasta alcanzar el sistema nervioso central, quedó demostrada al realizar la neurotomía del miembro donde fue inoculado el virus (14).

La replicación del virus rábico se lleva a cabo principalmente en las neuronas. La diseminación de la infección sucede por el mecanismo de célula a célula (transneuronal) y eventualmente se disemina extensivamente en el cerebro y la médula espinal (14).

La morfogénesis del virus rábico ocurre en el citoplasma neuronal, el núcleo celular no contiene antígeno ni virus. Al principio de la infección neuronal, pequeñas cantidades de viriones se encuentran adyacentes a los gránulos de Nissl indicando que la replicación viral se inicia en esa zona (14).

Durante la diseminación del virus en el sistema nervioso central ocurre un movimiento centrifugo de la infección a través de nervios periféricos. Viriones y productos virales han sido detectados regularmente en los axones y raras veces en las células de Schwann. El tránsito viral centripeto ocurre por medio del fluido axoplásmico (14).

congestión sanguínea en el cerebro y las leptomeninges (6). La médula espinal puede presentar una coloración rosado grisácea (42). Se observa edema y congestión vascular en el encéfalo (42). Hay un discreto engrosamiento de las circunvoluciones cerebrales y aplanamiento de los surcos respectivos. En la superficie de corte se observan zonas de color rosado frecuentemente en el tálamo, el bulbo raquídeo y la médula cervical (42). Frecuentemente se encuentran cuerpos extraños en el tracto gastrointestinal, además de un contenido rojizo oscuro, similar a sangre hemolisada (6).

Lesiones microscópicas:

A nivel microscópico es posible observar infiltración celular perivascular, hemorragia perivascular, gliosis focal o difusa, diversos grados de degeneración neuronal, corpúsculos de Negri (35)(42).

La degeneración neuronal va desde tumefacción, hasta picnosis, cariorrexis, lisis y neuronofagia (35)(42).

La degeneración neuronal es más frecuente en el bulbo raquídeo, el tálamo, el hipotálamo y la sustancia gris, es menos frecuente en la corteza cerebral y la médula. Las hemorragias perivasculares son más frecuentes en el tálamo (35)(42).

En la médula espinal hay hiperemia, neuronofagia e infiltración de células mononucleares particularmente en las astas posteriores (35)(42).

En el perro los corpúsculos de Negri se encuentran particularmente en el hipocampo y células ganglionares nerviosas (35)(42).

Las lesiones de la rabia corresponden a las de una encefalomyelitis no supurativa, con ganglioneuritis y adenitis parotídea, grave degeneración nerviosa, observándose un infiltrado perivascular y gliosis focal. Hemorragias anulares limitadas en los espacios perivasculares alrededor de los vasos infiltrados. Los nódulos de Babes están formados por microglia y aparecen en la sustancia blanca o gris. Estos nódulos varían en tamaño, algunos tienen 6-7 células y otros cientos o más. Las gliosis difusa y focal se presentan en las siguientes áreas de la sustancia gris; puente, médula espinal y sus astas (6).

Generalmente los cambios histopatológicos están distribuidos en la sustancia gris, particularmente en la protuberancia, mesencéfalo y tálamo. La porción más afectada es la corteza de la circunvolución del hipocampo (35)(42).

Los cuerpos de Negri deben diferenciarse de otros similares producidos por ciertos virus y que se denominan cuerpos de Lysa, la diferencia radica en que éstos son más abundantes, más refringentes y carecen de estructura interna (35)(42).

Los cambios neuronales y el cuadro anatomopatológico dependen de los cuerpos de inclusión de Negri estos son siempre intracitoplasmáticos y frecuentemente se encuentran en el hipocampo de los carnívoros. Las neuronas contienen escasos cuerpos de inclusión, sin embargo también, se han encontrado en células ganglionares de médula adrenal, glándulas salivales y retina (6)(25).

Los corpúsculos de Negri son redondos y ovalados miden de 2- 8 micras de diámetro los de las dendritas adoptan una forma oval (6).

Son además acidófilos, rodeados por un halo claro y contienen una estructura basófila granular, pudiendo encontrarseles como inclusiones únicas o múltiples (42). Los cambios histopatológicos observados en perros infectados experimentalmente se localizan en la materia gris y médula espinal (6).

En las diversas especies animales los corpúsculos de Negri presentan diferentes tamaños y formas, según la especie de que proceden. Los corpúsculos de Negri encontrados en felinos tienen forma esférica y son de mucho menor tamaño que los observados en la especie canina, que en este caso son ovales o alargados similares a la forma de "salchichas" (42).

Sólo en los corpúsculos de Negri de gran tamaño es posible observar granulaciones basófilas envueltas en la matriz y otras estructuras reticulares que parecen formar la armazón de la matriz acidófila, distribuidas en el cuerpo neuronal y las dendritas. Al ocurrir la neurolisis los corpúsculos de Negri pueden encontrarse libres en el tejido de sostén (42).

Los corpúsculos de Negri se encuentran generalmente en las neuronas del asta de Amonn, en células piramidales de la corteza cerebral y en las células de Purkinje del cerebelo (42).

A nivel de microscopía electrónica se observa una infiltración y ruptura focal de mielina, algunas neuronas contienen una substancia granular procedente de la nucleocápside viral, también se observa un crecimiento de partículas virales principalmente en el retículo rugoso endoplásmico y a veces en la membrana plasmática (42).

La neuronofagia parece iniciarse por leucocitos polimorfonucleares, que son sustituidos rápidamente por neuroglia (42).

En las glándulas salivales puede verse una degeneración acinar del epitelio glandular e infiltración de células mononucleares en tejido intersticial. Pocos degenerativos adicionales pueden encontrarse en glándulas lagrimales, epitelio exócrino del páncreas y túbulos renales. A veces hay degeneración también en la médula de la cápsula suprarrenal (42).

VII.-SIGNOS CLINICOS:

El curso clínico de la rabia consta de 3 fases: prodrómica, excitativa y paralítica. Los signos prodrómicos consisten en ligeros cambios del temperamento, los perros se muestran inseguros, se esconden, evitan compañía o se tornan excesivamente atentos y afectuosos (17)(55).

La rabia "furiosa" se refiere a la predominancia de la fase excitativa y la rabia "paralítica" cuando la fase excitativa es muy corta o ausente y se presenta de inmediato la fase paralítica (55).

La fase prodrómica dura de 2-3 días se presenta un cambio sutil en el temperamento y un ligero aumento de temperatura corporal, dilatación pupilar y reflejo corneal lento (17)(55).

En la rabia furiosa hay excitación, convulsiones y muerte que corresponden a una forma sobreaguda de la infección. En esta forma hay agresividad de los perros (17)(55).

La fase excitativa puede ser muy corta generalmente dura de 1-7 días, en esta fase se observan los signos de la enfermedad. El perro se torna irritable, inquieto y nervioso. Evita a la gente, se esconde en lugares oscuros o bajo los muebles. Responde exageradamente a

estímulos sonoros o luminosos. Hay excitabilidad, fotofobia e hiperestesia (17)(55).

Persiguen insectos u objetos imaginarios, atacan inicialmente a personas extrañas y después a sus amos. Tienen a comer cosas inusuales como palos, pajillas, piedras y tierra. La inquietud aumenta, el animal realiza grandes desplazamientos y vaga sin rumbo. Si el animal es confinado, muerde los barrotes de la jaula o los eslabones de la cadena, rompiéndose los dientes y lesionándose gravemente el hocico (17)(55).

En muchos casos hay una salivación hilante y espumosa, tragan objetos extraños y pareciera que no sienten dolor. Hay un cambio característico en el ladrido, por parálisis de las cuerdas vocales y los músculos laríngeos, emitiendo sonidos extraños (17)(55).

La mandíbula está colgante y floja, la mirada esta fija y la córnea seca, no se observa hidrofobia, como en el hombre. El perro tiene dificultad para deglutir a causa de los espasmos después de la parálisis de los músculos de la deglución (17)(55).

Las convulsiones e incoordinación muscular son visibles hacia el final de esta etapa. Si el animal no muere de un ataque convulsivo, entra en la etapa paralítica, aquí es donde la enfermedad progresa de incoordinación muscular a parálisis de todo el cuerpo, posteriormente a coma y después sobreviene la muerte (17)(55).

El curso clínico de la rabia dura hasta 10 días incluyendo la fase prodrómica y rara vez más tiempo. Vaughn y cols., (1965) encontraron que la enfermedad clínica en perros infectados experimentalmente variaba de 1-7 días con promedio de 3 días (55).

El curso clínico de la rabia paralítica es de difícil diagnóstico y se le conoce como rabia "muda". El signo más característico es la llamada "caída de mandíbula", causada por la parálisis de los músculos de la masticación, imposibilitando al animal para comer o beber. También hay parálisis de los músculos de la cabeza y el cuello (17)(55).

El ptialismo observado, se debe a la parálisis de los músculos faríngeos. Con frecuencia el animal emite un sonido de aparente ahogamiento, como si tuviera un hueso atorado en la garganta. La parálisis se generaliza y la muerte ocurre a los 2-4 días de iniciada la sintomatología (17)(55).

VIII.- DIAGNOSTICO:

1.- Diagnóstico clínico:

Se práctica un minucioso exámen, para determinar si los signos de un hueso atorado en la garganta se deben a un cuerpo extraño en la farínge, o si son signos de ahogo espasmódico de la rabia. Se observan signos presores, como el mordisqueo espasmódico, irritabilidad y agitación, además de convulsiones epileptiformes, progresivas asociadas con la agresividad como respuesta a estímulos externos. Las convulsiones de la rabia están, asociadas a la etapa terminal o preparalítica de la rabia, mientras que en el moquillo y otras encefalitis se observan manifestaciones neurológicas cíclicas, con periodos de aparente recuperación (Rife 1953) (55).

2.- Diagnóstico de laboratorio:

a.- Histopatológico:

Debe obtenerse una muestra de corteza cerebral, hipocampo y cerebelo de 0.5 cm²., y se deposita en un frasco con solución amortiguada de formol al 10%, con pH 7.2, siendo el volumen 10 veces mayor a la muestra y permanecer como mínimo 24 horas en esta solución para fijar la muestra a temperatura ambiente. Fijada la muestra se efectúan inclusiones en parafina para realizar cortes en el microtomo, se coloca en una laminilla y se tiñe con hematoxilina-eosina, fucsina o Mann y al observar en el microscopio se buscan los corpúsculos de Negri. La prueba es efectiva en 70% de los casos (30)(39).

b.- Tinción de Seller.-

En esta técnica se usan la tinción rápida con impregnación. Es una técnica sencilla y segura, pues permite observar los corpúsculos de Negri "in situ" (30)(39).

Para teñir las improntas se sumergen en una solución que contiene 6 ml de fucsina básica, 20 ml de azul de metileno y 50 ml de metanol absoluto durante 2-10 minutos. La preparación se lava con agua corriente para eliminar el exceso de coloración y se secan con papel filtro sin lavarlas con alcohol o bien se secan a temperatura ambiente (30)(43).

El portaobjetos se observa con el objetivo de mediano aumento buscando zonas con abundantes neuronas y después con el objetivo de inmersión para localizar a los corpúsculos de Negri que suelen verse redondeados y adquieren un color rojo magenta o heliotropo (30).

En las neuronas los corpúsculos de Negri son intracitoplasmáticos (31).

Desafortunadamente, 3-19% de los casos no presentan corpúsculos de Negri, por lo que cuando esta prueba resulta negativa es indispensable continuar la investigación inoculando el material sospechoso en ratones de 4 semanas de edad, que cubre un margen de seguridad de 99%.

c.- Prueba de Anticuerpos Fluorescentes.-

Esta prueba fue desarrollada por Coons y Kaplan (1950) y la adaptaron para el diagnóstico de la rabia Goldwasser y Kissling (1958). Es la más exacta para el diagnóstico de la rabia, requiere de personal especializado, reactivos de alta calidad y el microscopio de inmunofluorescencia. Las muestras para esta técnica pueden ser congeladas, frescas o gliceroladas (18)(39).

La técnica se basa en el uso de gamaglobulina antirrábica conjugada al isotiocianato de fluoresceína para detectar antígenos presentes en los tejidos. Los anticuerpos marcadores teñidos con el colorante fluorescente, reaccionan con el antígeno específico y se observa la reacción en el microscopio. La substancia fluorescente absorbe una gran cantidad de energía luminosa a cierta longitud de onda y emite luz a una diferente longitud de onda. El antígeno al reaccionar con los anticuerpos marcados con isotiocianato de fluoresceína, forma un complejo que bajo la luz ultravioleta emite radiaciones de luz de color verde manzana o verde amarillento (18)(27)(43).

El éxito en el diagnóstico depende del conjugado. Este, debe prepararse fraccionando el suero por saturación media con sulfato de

amonio, marcando la globulina obtenida en una solución de isotiocianato de fluoresceína, pasando el anticuerpo marcado por una columna de Shepadex G-50 (18). Una tinción satisfactoria se obtiene con una dilución final de conjugado de 1:40, es decir, 0.1 ml de conjugado se añade a 3.9 ml de suspensión de cerebro de ratón. El conjugado se conserva a una temperatura de 4 C (18).

Una suspensión normal de cerebro de ratón al 20% para diluir con el conjugado se obtiene usando un diluyente de yema de huevo de embrión de pollo de 6-7 días de edad al 10% en PBS con un pH de 7.6. La suspensión se centrifuga durante 10 minutos a 1,000 g, el sobrenadante se deposita en frascos de vidrio en cantidad suficiente para un día ó semana de trabajo y se conserva a -20 C. Las suspensiones de cerebro de ratón infectado se conservan igual, usando cerebros de ratones jóvenes inoculados intracerebralmente con una suspensión de 1:100 hasta 1:1000 de cepa CVS de virus rábico "fijo" (18).

Las laminillas "testigo" se preparan a partir de cerebro de ratón o bien de hipocampo procedente de animales susceptibles inoculados intracerebralmente con una cepa de virus rábico de "calle". Estas laminillas se guardan en acetona ó a -20 C (18).

Método directo.- se aplica una suspensión de anticuerpos rábicos marcados con isotiocianato de fluoresceína directamente a las improntas de cerebro, glándulas salivales, cultivos celulares u otros materiales (18)

Las muestras gliceroladas deben lavarse previamente 2 veces en solución salina. Cuando menos 4 preparaciones de cerebro y/ó glándulas salivales deben observarse antes de ofrecer un diagnóstico (18)

Se utilizan improntas del asta de Amon, cerebelo o corteza cerebral, glándulas salivales, impresiones corneales, raspado de mucosas y cortes de piel con folículo piloso (congelados) para teñirlas con el conjugado anticuerpo isotiocianato de fluoresceína, la impresión sobre el portaobjetos deberá ser lo más delgada posible y se hacen dos improntas en la laminilla, dejando una como testigo (39)(43). Realizadas las impresiones de tejido nervioso se sumergen en acetona fría a -20 C y se conserva por lo menos 30 minutos a esta temperatura. Se seca al aire y con tinta plástica Marktex se traza un círculo alrededor de cada impronta y se tiñen como sigue:

a.- Una de las improntas se cubre con una mezcla de cerebro normal de ratón con conjugado en la proporción de 4:1. La segunda impresión se cubre con una suspensión de virus elaborada a partir de cerebro positivo de ratón y conjugado antirrábico, también en la proporción de 4:1 (43).

b.- Las laminillas se incuban a 37 C durante 30 minutos en una cámara húmeda e inmediatamente después se lavan dos veces sucesivas por 10 minutos en solución salina amortiguada fosfatada y finalmente en agua destilada. Se secan al aire y se cubren con una solución fosfatada y glicerolada en la proporción de 9:1 con un pH de 7.6 se sobrepone un cubre objetos y se observan al microscopio de luz ultravioleta para observar el antígeno del virus rábico (6)(25)(40)(43).

Se considera positiva la muestra si se observa una fluorescencia "verde manzana". La muestra testigo no debe mostrar ninguna fluorescencia (25)(27)(43).

La efectividad de la prueba es de 99.8% (31)(34). Experimentalmente se ha trabajado en la localización del virus rábico en cortes de piel en la región del bigote a nivel de folículo piloso usando la técnica de inmunofluorescencia comparando los resultados obtenidos con los de impresiones de tejido cerebral (17)(34). Se hicieron impresiones en las que se aplicó la técnica directa de anticuerpos fluorescentes. Los 57 casos resultaron positivos en las impresiones de tejido cerebral y en los cortes de piel 47 fueron positivos (83%), por lo tanto ésta es una alternativa diagnóstica (17)(34).

d.- Prueba de Inoculación en ratones.- El ratón blanco suizo es la especie ideal para esta prueba, pero se pueden usar otros ratones excepto el ratón gris salvaje, ya que es difícil de manejar y tiene cierta resistencia genética para contraer la infección rábica (28). La mejor edad para inocular a los ratones es de 21-35 días y con un peso de 8-12 g. Los ratones deben estar sanos y adaptados previamente al ambiente del laboratorio. Se debe contar con un lote de ratones testigo para comparar la mortalidad "normal" con los ratones inoculados (28)(39)(43)

Respecto al tejido que se usará para inocular a los ratones se prefiere el cerebro seleccionando las astas de Amon, el cerebelo y parte de la corteza cerebral y en 2º lugar las glándulas salivales prefiriendo las glándulas submaxilares (28).

Para moler la muestra, se considera la cantidad disponible, si se cuenta con 3-4 g de material se usa una licuadora Waring, pero si la cantidad de tejido es menor de 3 g se muele en una licuadora Ten Broeck o bien en un mortero de vidrio (28).

En cuanto al diluyente usado para la inoculación se recomiendan los siguientes:

Una solución salina isotónica con diferentes proporciones de suero a una concentración de 10-50%. El suero deberá provenir de un animal que nunca fue vacunado contra la rabia, preferentemente de conejos o bien ovejas, el suero se inactiva a 56°C durante 30 minutos y se filtra para eliminar bacterias (28)

Para preservar a la suspensión de tejido cerebral libre de bacterias se añade una solución de glicerol al 50% ya que ejerce una fuerte acción bacteriostática y a la suspensión final se le adicionan 2 mg de estreptomina y 500 U.I. de penicilina por mililitro y se dejan actuar a los antibióticos por lo menos 30 minutos antes de inocular a los ratones (28)

Si la suspensión de tejido se elabora de glándulas salivales se debe hacer un cultivo en caldo de carne, tioglicolato o agar sangre para determinar si hay algún microorganismo contaminante (28)

Respecto a la concentración de tejido infectante se recomienda una suspensión al 20% por peso. El peso de la muestra en gramos se multiplica por 4 y se obtiene la cantidad de diluyente que se requiere en mililitros. Pero para inocular ratones se recomienda una suspensión al 10%. A cualquier suspensión al 20% se le añade igual cantidad de diluyente o bien multiplicar el peso de la muestra en gramos por 9 para obtener la cantidad de diluyente en mililitros (28)

Las jeringas para inoculación intracerebral deben ser las de tuberculinización (28).

Para anestésiar al ratón se usa éter, o bien pentobarbital sódico. El ratón anestésiado se coloca sobre el lado izquierdo con las piernas hacia el inoculador, éste con la mano izquierda sostiene el

maxilar inferior colocando su dedo índice atrás del cráneo del ratón. El inoculador sostiene con la mano derecha la jeringa poniéndola en posición horizontal a la tabla de disección y perpendicular a la cabeza del ratón, debe atravesar rápidamente el cráneo del ratón hasta alcanzar el vértice de un ángulo imaginario, formado por la oreja y el oído derechos e introducir 0.1-0.2 cm. la aguja en el cerebro y depositar 0.3 ml de inóculo (28).

Observación de los ratones inoculados.

Después de la inoculación es muy raro que se observen ratones con signos clínicos de la rabia antes del 5º día postinoculación, sin embargo los ratones deben observarse desde el 1er día, hasta cumplir 21 días como mínimo (28).

Los posibles signos que podrían observarse son los siguientes: pelo erizado, temblores, incoordinación de los miembros posteriores, parálisis y postración antes de morir (28)

Las muertes que ocurran a las 24-48 horas post-inoculación son atribuidas a traumatismos, contaminación bacteriana y otros virus. A partir del 5º día post-inoculación se sacrifican 1 ó 2 ratones por día y se buscan los corpúsculos de Negri aplicando la técnica de inmunofluorescencia (28)

Para enviar muestras de tejidos o líquidos orgánicos es recomendable remitir para el aislamiento del virus, fragmentos del Asta de Ammon, cerebelo y corteza cerebral, o bien saliva sospechosa congelada en un recipiente isotérmico. Como tejidos alternativos se pueden enviar glándulas salivales, córnea, piel, tonsilas o lavado ocular con solución antibiótica que puede contener virus viables (43)

e.- Aislamiento del virus:

Se realiza a partir de una suspensión de tejido nervioso al que se agrega antibióticos del 10-20% en solución salina isotónica (43). La suspensión se centrifuga y se inoculan 6-8 ratones de 3-4 semanas de edad por vía intracerebral. Las muertes ocurridas a partir del cuarto día post-inoculación son específicas. Confirmando la especificidad mediante examen cerebral de ratones por la técnica de anticuerpos fluorescentes (43).

IX.- PRONOSTICO:

Grave y casi siempre fatal.

X.- TRATAMIENTO:

En la década de los años 50s se realizaron estudios en animales, a los que se les administró suero y vacuna antirrábica y desarrollaron una mejor respuesta inmune que los animales que recibieron la vacuna. Este estudio se confirmó posteriormente en Irán, cuando se aplicó vacuna y suero a 13 personas con graves mordeduras producidas por el ataque de un lobo rabioso y sólo murió una persona, en tanto que un grupo de 4 personas que sólo fueron vacunadas murieron 3 (5).

Experimentalmente se demostró que el suero antirrábico y sus fracciones globulínicas son eficaces coadyuvantes en el tratamiento vacunal tanto en monos y borregos como en las personas gravemente contaminadas por la mordedura de animales rabiosos. Por lo que se considera que la administración de suero y vacunas antirrábicas es

la mejor profilaxis. Lo anterior forma parte de las recomendaciones de la OMS (54).

La etapa de la infección rábica es otro factor importante para controlar la enfermedad. Siguiendo a la exposición al virus rábico hay un periodo corto de viabilidad (definido como la recuperación del virus vivo en el sitio donde ocurrió el trauma) durante el cual podría limitarse la replicación viral en los miocitos cercanos al sitio de la inoculación (27).

Después de esto, el virus desaparece y no puede ser detectado, hasta su aparición en los ganglios espinales o las neuronas motoras ventrales. Casi de inmediato el virus es detectado en el cerebro. Como la diseminación en el sistema nervioso central es muy rápida, las posibilidades de sobrevivencia son muy reducidas si la enfermedad no es detenida antes de esta etapa (27)

XI.- PROFILAXIS:

Dentro de las recomendaciones que presentó la Organización Mundial de la Salud en el Séptimo Informe de Expertos sobre Rabia en 1984 destacan las siguientes:

Limitar o abandonar la producción de vacunas encefalolitógenas de tejido cerebral debido a que en el caso de las vacunas tipo Fermi inactivadas con Fenol, la inactivación es parcial, conteniendo la vacuna virus residual infectante, además del riesgo que representa la presencia de otros virus (virus herpes b símico, filovirus, entre otros.) que podrían contaminar el tejido nervioso usado para la producción de estas vacunas y que logran evadir la inactivación (54).

Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud para el Uso y aplicación de Vacunas en la especie canina (60).

Vacunas de virus vivo modificado.

Origen y cepa de la vacuna	Edad primera vacunación	Revacunación
Embrión de Pollo cepa Flury LEP	3 y 12 meses	cada 3 años
LINEAS CELULARES:		
caninas	3 y 12 meses	cada 3 años
cepa Flury HEP de hámster	3 meses	anual
cepa Kissling HCP		
CULTIVO DE TEJIDOS		
cepa SAD de alto pasaje celular tejidos caninos	3 y 12 meses	cada 3 años
cepa SAD de alto pasaje celular cultivo de riñón bovino	3 meses	anual
cepa SAD de alto pasaje celular células renales de hámster	3 y 12 meses	anual
cepa Vnukovo-32		

Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud para el Uso y aplicación de vacunas de uso Veterinario en la especie canina (60).

I.- VACUNAS DE VIRUS INACTIVADO

Origen y cepa de la vacuna	Dosis	Edad de la vacunación	Revacunación
A.- TEJIDO NERVIOSO:			
de animales adultos	2 ml	3 meses	Anual
de animales lactantes	1 ml	3 meses	anual
B.- LINEAS CELULARES:			
de hámster cepa Kissling	1 ml	3 meses	anual
de alto pasaje celular			
de hámster, cepa PM.	1 ml	3 y 12 meses	anual
de hámster cepa PM;	1 ml	3 meses	anual
con leptospirosis	1 ml	3 meses	anual
con leptospirosis, distemper y hepatitis canina.	1 ml	3 meses	anual
de pollo, cepa Flury LEP		3 meses	anual
cepa Flury LEP	2 ml	3 y 4 meses	anual
de porcinos, cepa SAD	1 ml	3 y 12 meses	anual
de porcinos, cepa SAD	1 ml	3 meses	anual
de mono, cepa SAD	1 ml	3 meses	3 años
de mono, cepa SAD.	1 ml	3 meses	anual
felinos, cepa SAD	1 ml	3 meses	anual (60).

PAIS	MARCA	CEPA	MEDIO DE CULTIVO	DURACION DE LA INMUNIDAD
VACUNAS DE VIRUS VIVO:				
Algeria	Algiers	ERA	BHK 21	2 años
Bangladesh		HEP,LEP	Embrión de Pollo	
Hungría		Vnukovo	BHK	18 meses
Kenya		Flury LEP	Embrión de pollo	3 años
Korea		Flury LEP	Embrión de pollo	3 años
Madagascar	Flury	Flury HEP	Embrión de pollo	2 años
Egipto	Abassia	Flury LEP V		
India		Flury LEP	Embrión de pollo	3 años
Rumanía		RVF		1-2 años
Senegal		HEP	Embrión de pollo	
Sudáfrica		Flury HEP	Líneas celulares de hámster	3 años
España		Flury	Embrión de pollo	1 año
Turquía	Kelev		Fibroblastos de embrión de pollo	1 año
Vacunas Vivas Atenuadas:				
Bélgica	Flurimum	HEP,LEP	Embrión de pollo	
Grecia		LEP HEP .	Embrión de pollo	1 año
Italia		Flury LEP .	Embrión de pollo	1 año
Italia	Ismiflur	Flury HEP .	Embrión de pollo	2 años
Italia		Flury LEP .	Embrión de pollo	1 año
Vacunas Vivas Modificadas:				
Canadá	Cepa Era	ERA	Tejido porcino	3 años
E.E.U.U.	Endurall R	Flury HEP	Líneas celulares caninas	3 años
E.E.U.U.	ERA rabies	HPC SAD .	Líneas celulares de cerdo	1-3 años
Yugoslavia	Rabical	Flury HEP	Fibroblastos	1 año
Yugoslavia		Flury LEP	Fibroblastos de embrión de	1-3 años
España	Canazoo	LEP	Fibroblastos de	2-3 años
España		LEP	Fibroblastos de embrión de pollo	3 años

Vacunas Inactivadas:

Brasil		CVS	SMB	1 año
Brasil		CVS	SMB al 2.5%	1 año
				mínimo
Brasil	Rabivac	PV fija	células BHK	1 año
Brasil	Rabivac B	PV fija	células BHK	1 año
Brasil		PV 3422	células BHK	1 año
Colombia		CVS 51,91	SMB	2 años
Cuba		CVS 51	SMB	
Inglaterra		RV 675	BHK 21 células	2 años
Inglaterra	Rabdomun		BHK	2 años
Argentina		CVS 51,91	SMB, NIL 2	1 año
		GS 57		
Bolivia	Fuenzalida	CVS 51,91 F.P	SMB	1 año
R.F.A.	Madivak	LEP-C23	Fibroblastos de embrión de pollo	1-2 años
			Fibroblastos de embrión de pollo	
R.F.A.		LEP-C23		1 año
R.F.A.	Rabdomun	Flury LEP	Células BHK	
Francia		GS Wistar	NIL 2 HEF	3 años
Francia	Labelle	RVF L.C.	Células BHK 13	1 año
	Rage			
Japón		Nishigara	Cerebro de cabra	6 meses
Marruecos		CVS	Cerebro de oveja	
Portugal		PVF	Cerebro de cordero 5%	6 meses a 1 año
			"	6-12 meses
Portugal		PVF		
Dominicana	F.P.	CVS	SMB	1 año
Senegal			Tejido nervioso al 5%	1 año
Túnez		PV 11	Cerebro de cordero	1 año
E.E.U.U.	Endurall K	SAD	Líneas celulares porcinas	1 año
E.E.U.U.		Kissling	Células BHK	1 año
E.E.U.U.	Trimune	CVS 27	SMB	2 años
E.E.U.U.	Rabvac		Células BHK	
E.E.U.U.	Trimune		SMB	2 años
Venezuela		CVS 51,91	SMB	2 años (60)

		Vacunas de Virus Muerto:		
E.E.U.U.	Biorab-1	CVS	SMB	1 año
E.E.U.U.	Biorab-3	CVS	SMB	3 años
E.E.U.U.	Rabcine	Kissling	Líneas celulares de hámster	1 año
E.E.U.U.	1905.55	CVS	Ratón lactante	1 año
E.E.U.U.	Cytorab	HPC SAD	Líneas celulares de mono	1 año
		Vacunas Tipo Fermi:		
Etiopía		PV 12	Cerebro de oveja adulta	6 meses
		Vacunas Tipo Semple:		
Irán		RVF	Cerebro de oveja	1 año
Japón		Nishigara	Cerebro de cabra	6 meses
Japón		RC.HL	Líneas celulares de pulmón de hámster	1 año
Pakistán		PV	Cerebro de oveja	6 meses
		Vacunas Tipo Umenc Doi:		
Polonia	Rabies Vac	RVF	Cerebro de oveja	1 año (60)

La profilaxis es el procedimiento de inmunización preventivo contra una infección mediante la utilización de vacunas.

La elaboración de vacunas antirrábicas fue iniciada por Pasteur en 1885, el método desarrollado por Pasteur siguió utilizándose hasta 1952 en el Instituto Pasteur (23).

Hasta 1955 en Latinoamérica se disponía de vacunas antirrábicas preparadas a base de virus fijo propagado en cerebros de conejos o corderos (23). En 1954, el 18 de Octubre Fuenzalida y Palacios, presentaron en Chile, la vacuna desarrollada por ellos, que contiene sólo 1% de tejido nervioso producida a partir de cerebro de ratón lactante. Cada cerebro de ratón proporciona antígeno suficiente para elaborar 4 dosis de vacuna antirrábica canina (23).

Para elaborar vacunas se usó órganos de animales infectados tratados con sustancias químicas para inactivar a los virus, algunas vacunas

antirrábicas se elaboraron a partir de cerebro de borrego y a veces dieron buenos resultados pero producían reacciones adversas (31) Más tarde se desarrollaron las cepas avianizadas de alto pasaje, pero cayeron en desuso por conferir protección parcial (17)(31). En materia de seguridad se busca que las vacunas contengan el mínimo de componentes capaces de producir reacciones indeseables y para cumplir este propósito se trabaja en la introducción de vacunas subunitarias especialmente para uso humano con la finalidad de evitar accidentes neuromusculares por mielina, que originan la desmielinización del paciente (31).

Tipos de vacunas utilizadas en especies animales:

A.- Vacunas Inactivadas.

La vacuna Hogyes (1888) era una dilución de médula espinal fresca de conejos en solución salina. Esta vacuna requería de 6 dosis para inmunización preexposición. En más de 15 000 animales de diferentes especies vacunadas, sólo el 1.5% quedó sin protección (11).

Tipo Fermi (1908) inactivada con fenol, durante 24 horas a 22 C (4)(17).

Tipo Semple (1911) inactivada con fenol, durante 72 horas a 30 C (4)(17)

Vacuna Umeno, Doi (1916) inactivada con fenol (17).

Vacuna Hempt (1925) inactivada con éter y fenol (4)(17).

Vacuna Kelsner (1925) inactivada con cloroformo (17).

Vacuna Elaborada en Embrión de pato. (para uso humano) (17).

Vacuna Fuenzalida (17)(20).

a.- Vacunas de Virus Inactivado:

1.- Vacunas fenoladas.- La vacuna Semple se prepara inactivando al virus con 1.25% de fenol, produce reacciones neurológicas, sobretudo al aplicar más de 10 dosis de vacuna elaborada en tejido nervioso. En 1921, esta vacuna tuvo éxito en Japón (17).

2.- Vacuna elaborada en embrión de pato. Se elabora con virus fijo desde 1953, se inactiva con beta-propiolactona y se usa en humanos. Produce menos reacciones que la Fermi, y algunas veces ha fallado (17).

3.-Vacuna Fuenzalida. Es de reciente desarrollo, se elabora en cerebro de ratón lactante y se inactiva con luz ultravioleta. Tiene una concentración de 1% de tejido nervioso. Debido a que el cerebro de ratón lactante no tiene mielina demostrable, da gran garantía de inocuidad. Su factor paratígeno es 4 veces menor que las vacunas tipo Semple. Induce la formación de anticuerpos a los 7 días de aplicada. (16). Un requisito indispensable para la elaboración de esta vacuna es que los animales utilizados para su producción no rebasen los 3 días de edad en el caso de vacunas para personas y 5 días en el caso de animales les haya salido pelo al momento de cosechar los cerebros (20)(44).

Esta vacuna liofilizada, produce anticuerpos específicos y un 100% de respuesta inmunitaria en menos de 7 días, comparativamente con perros a los que se les administró esta vacuna en forma líquida (20)(23)

Al liofilizar una vacuna se incrementa el período útil de uso del biológico, facilita el transporte y existe la posibilidad de

suspenderla con coadyuvantes. La vacuna en estas condiciones además de inducir una mayor formación de anticuerpos, más rápido y por periodos más prolongados, debe contar con un protector del antígeno por medio de un estabilizador en base a gelatina y sacarosa (20). Los títulos antirrábicos seroneutralizantes obtenidos en perros vacunados con producto liofilizado fueron semejantes o superiores a los obtenidos con vacunas de otro tipo (20).

Esta vacuna podría suspenderse con un adyuvante de características potenciadoras (Hidróxido de aluminio) y en caso de brotes de rabia en cualquier especie animal podría utilizarse sin problemas (20).

Esta vacuna para Latinoamérica es una opción acertada para inmunizar perros y gatos debido a:

-Ser una vacuna de alta potencia, que produce una fuerte respuesta inmune.

-Reducido costo de producción.

-Buena estabilidad tanto líquida como liofilizada.

Comparativamente con las vacunas de cultivo celular, los accidentes postvacunales, son el factor limitante de uso en humanos ya que en las especies animales este riesgo desaparece completamente, debido a que sólo se administra una dosis anualmente (20)(44).

Al inmunizar perros con la vacuna Fuenzalida Palacios, a nivel experimental se encontró, que la inmunidad de mas de 70% de respuesta seroneutralizante se obtuvo a los 5 días después de aplicar la vacuna liofilizada, en tanto, que al administrar la vacuna líquida la respuesta se obtuvo a los 7 días post-aplicación (20).

Actualmente se desarrolló una vacuna inactivada, reproduciendo el virus en células diploides humanas y confiere mejor protección que la de embrión de pato y se esta estudiando en humanos (17).

B.- Vacunas Vivas Atenuadas:

Vacuna avianizada Flury LEP (bajo pasaje).(Cox y Koprowski) (44).

Vacuna avianizada Flury HEP (alto pasaje).(Koprowski) (44).

Vacuna cepa Kalev.

Vacuna cepa Kissling de alto pasaje.

Vacuna cepa Kaw.

Vacuna V-319/Acatlán.

Vacuna cepa Street Alabama Dufferin.

Vacuna cepa Era.

a.- Vacunas de Virus Vivo Atenuado:

1.- Vacuna avianizada Flury LEP (bajo pasaje).- Se elabora con virus adaptados a pollitos por vía intracerebral durante 136 pases, después de adaptó a embrión de pollo mediante 40 a 50 pases. Se cultiva en huevos embrionados o en células de riñón de hámster, confería una protección de 3 años en canes, pero se demostró que esta vacuna ocasiona casos de rabia en perros (11)(17).

2.- Vacuna avianizada Flury HEP (alto pasaje).- La atenuación de esta vacuna se inició con 178 pases en embrión de pollo. En México se demostró que la protección que confieren estas vacunas no es satisfactoria. Esta vacuna se recomienda para la inmunización de gatos (17)(54).

3.- Vacuna elaborada con la cepa Kaley.- Se cultiva en huevos embrionados y se le dan más de 100 pases, se usa en perros y bovinos (17).

4.- Vacuna elaborada con la cepa Kissling de alto pasaje.- se cultiva en líneas celulares de riñón de hámster y se aplica en perros (17).

5.- Vacuna elaborada con la cepa KAW.- Se cultiva en líneas celulares de riñón de hámster se le dan 90-100 pases y se utiliza en todas las especies domésticas.

6.- Vacuna V-319/Acatlán.- Es una Vacuna de virus vivo modificado. La ventaja de estas vacunas es que confieren buena inmunidad y se vacuna anualmente, pero se inactivan fácilmente por mal manejo y el virus esta muy desprotegido al inyectar al animal (24).

Se origina del murciélago vampiro Desmodus rotundus, esta adaptada a cultivos celulares y se desarrolló en el INIFAP (Bijlenga y Hernández 1980) (40).

Se han realizado pruebas de inmunogenicidad e inocuidad en perros adultos y cachorros de la raza Beagle con desafío a 3 meses postvacunación, (Gómez, Hernández y Campos 1976). y se demostró que la vacuna V-319/Acatlán protegió a estos perros contra rabia resultando inocua para la especie canina. A nivel experimental se encontró que la vacuna confirmó protección al 88.8% de los animales vacunados (40).

La utilidad de esta vacuna a 12 meses postvacunación para prevenir la rabia canina fue comprobada por Sagardia, et. al., (1978).

Los resultados obtenidos en perros vacunados con la cepa V-319/Acatlán a 30 meses postvacunación indican que protegió al 100% de los animales vacunados, confrontados con virus rábico de "calle". Por lo tanto es un biológico confiable y altamente inmunogénico (40).

7.- Vacunas elaboradas con la cepa Street Alabama Dufferin:

La primera vacuna elaborada a partir de la cepa SAD fue denominada ERA por las iniciales de los investigadores que la desarrollaron (Evelyn Gaynor, A, Rockitnicki y M.K. Abelseth). Estas personas hicieron pases al virus Fenje por embrión de pollo y células de riñón porcino, el virus resultante, resultó avirulento intracerebralmente en el ganado, pero por esta vía inducía la rabia postvacunal en perros (11).

La vacuna SAD-ERA, es efectiva en perros, gatos, ganado, ovejas, cabras y caballos. Se usa en Sudamérica para el control del derriengue (11).

El virus SAD fue pasado por células de bovinos y caninos para producir otras vacunas para perros y gatos. El virus SAD de alto pasaje en células caninas, sufrió otro pasaje más amplio en células de riñón de hámster y se produjo una excelente vacuna oral que se administra en Europa para controlar la rabia vulpina (11).

La cepa SAD adaptada a cultivos celulares desarrollada por Fenje se denomina Vnukovo-32, se desarrollo en Rusia mediante pases seriados en células renales de hámster a una temperatura de 32 C y se recomienda su uso en perros, ganado, caballos, ovejas y cabras (11).

Esta vacuna ha inducido casos de rabia en gatos y algunos productos biológicos comerciales han sido retirados del mercado (11).

8.-Vacunas elaboradas con la cepa Era:

Esta cepa se deriva de la cepa Street Alabama Dufferin (SAD), que fue aislada de un perro rabioso en Alabama (E.E.U.U.) en el año de 1935, y el virus aislado fue pasado subsecuentemente en ratones. Este virus

fue adaptado por Fenje a las células de riñón de hámster en 1960 (11).

La primera vacuna elaborada a partir de la cepa SAD, fue la ERA, los investigadores que la desarrollaron, realizaron una serie de pases con el virus adaptado por Fenje en embrión de pollo y células de riñón de cerdo. Comparando a la vacuna elaborada con la cepa ERA, ésta es muy efectiva respecto a las originadas en tejido nervioso (11).

Posteriormente, la cepa ERA fue sometida a un pasaje más amplio en células de bovinos y caninos para producir otras vacunas para perros y gatos resultando una vacuna de la cepa ERA altamente atenuada que ha tenido mucho éxito al administrarse a las zorras por vía oral para el control de la rabia en Europa (11).

La cepa ERA adaptada por Fenje a cultivos celulares se desarrollo en la ex-U.R.R.S. y se le denominó Vnukovo, obteniéndose al realizar pases del virus de Fenje por células de riñón de hámster a una temperatura de 32 C. Esta vacuna se recomienda para aplicar en perros, caballos, ovejas y cabras (11).

En algunos casos la administración de esta vacuna en gatos ha inducido la rabia postvacunal. (54).

b.-Vacunas Orales:

En la vacunación oral se presentan varias dificultades como; la sensibilidad a la acción que los jugos gástricos ejercen sobre el virus rábico y la disminución de su infectividad en el estómago (41) Varias especies animales pueden ser inmunizadas mediante la inoculación de una vacuna de virus vivo atenuado, directamente administrada en el intestino grueso mediante un gastroscopio (41).

Para administrar una vacuna por vía oral se requiere de un vehículo que transporte a la vacuna sin que esta sufra degradación hasta el intestino delgado, dando así una ventaja frente a la inmunización a nivel de mucosa oral o faríngea. Esta degradación de la vacuna liofilizada podría resolverse cubriéndola con una capa de saponinas, que le confieran una forma física de pellet. Esto permitirá que la vacuna resista la acción de enzimas, humedad, pH bajo y temperatura elevada antes de liberar al virus en un medio ligeramente alcalino como es el caso de del intestino delgado (41).

Algunas de las desventajas de la vacunas de virus vivo atenuadas, empleadas en la vacunación oral, pueden solucionarse al aplicar vacunas de glicoproteína (V-RG) que al ser administradas por vía oral han inmunizado a zorras, zorrillos y mapaches (41).

Con esta vacuna a nivel experimenta se vacunó a un grupo de 13 zorras salvajes capturadas en una zona donde la rabia es enzootica, administrando la vacuna de glicoproteínas por vía oral, directamente en la cavidad oral (57).

A los 28 días post-vacunación los animales habían desarrollado anticuerpos contra la rabia, (excepto una zorra), se formaron lotes de 5, 4 y 4 zorras, que fueron sometidos a la prueba del desafío por vía intramuscular, con una cepa de virus rábico de "calle" adaptados a las zorras, a los 33, 180 y 360 días post-vacunación respectivamente (57).

Todos los animales desafiados a los 33 y 180 días postvacunación sobrevivieron a la prueba. El lote de 4 zorras desafiadas a los 360 días postvacunación mostró lo siguiente: 2 zorras sobrevivieron, 1

murió accidentalmente y la zorra que al principio del experimento no había desarrollado anticuerpos contra la rabia, murió (57)

Ninguna de las zorras presentó signos clínicos característicos de la infección rábica después de haber sido vacunadas contra esta enfermedad con la vacuna de glicoproteínas, demostrando la eficacia e inocuidad de esta vacuna en animales jóvenes (57).

A nivel experimental se encontró que cierto número de virus vivos modificados o atenuados son muy inmunogénicos cuando se aplican en la mucosa lingual o bucal del zorro o cuando este come un cebo apropiado (54).

La cepa de virus vivo atenuado SAD se usa con éxito desde 1978 para la inmunización de zorros. En Suiza esta cepa no ha dado muestras de virulencia ni producen infecciones latentes en varias especies animales salvajes pequeños. La clonación seriada en células BHK ha resultado en la obtención de la cepa SAD B 19 que es estable ante temperaturas de congelación o muy elevadas, produce una alta inmunogenicidad aun a dosis reducidas y es inocua en animales domésticos y salvajes (54)

Para mejorar la inocuidad y estabilidad térmica de las vacunas orales que se aplican a los carnívoros salvajes se ha utilizado la ingeniería genética insertando el gen de la glicoproteína del virus rábico (cepa ERA) en el genoma del virus de la vaccinia. Este virus recombinante se replica en células VERO en las cuales se expresa la glicoproteína (antígeno inmunizante del virus rábico). Administrado el virus por vía oral se replica antes de 48 horas en las amígdalas y no se han registrado casos de transmisión horizontal en los animales (54).

A nivel experimental esta demostrado que éste virus recombinante es inocuo para varias especies animales domésticas y salvajes. Se comprobó que el virus recombinante induce la producción de anticuerpos neutralizantes y completa protección al desafío con virus rábico de "calle" en animales de laboratorio, zorros, mapaches y murciélagos vampiros (54).

C.- Vacunas de Proteínas:

Actualmente se han desarrollado vacunas que sólo incluyen los determinantes antigénicos o epitopos de los antígenos virales que inducen la respuesta inmune.

a.- Vacunas Subunitarias.

Se preparan a partir del fragmento del virus que contiene el determinante antigénico que produce la protección en el animal. El virus se separa y purificando sus componentes, se obtienen los determinantes antigénicos y se eliminan los protectores que podrían interferir con la respuesta inmune y al eliminar el material genético en el proceso de purificación no existe riesgo de reversión patogénica (37).

Las desventajas de estas vacunas son, al fragmentar el virus los determinantes antigénicos pueden perder su tridimensionalidad original confiriendo menor protección. Son más caras que las de virus atenuados, necesitan de un adyuvante y los animales requieren mínimo 2 dosis (37).

b.- Vacunas de Péptidos Sintéticos.

Se obtienen por síntesis química de péptidos. Se requiere conocer la secuencia de aminoácidos que conforman al péptido que constituye el determinante antigénico que induce la inmunidad (37). La determinación de la secuenciación del péptido purificado sigue la secuencia de nucleótidos del gen que codifica al péptido (37).

c.- Vacunas clonadas:

Esta técnica introduce al gen que codifica un determinante antigénico dentro de un transmisor adecuado y ya en él, colocado en un medio biológico (bacteria, célula animal entre otros.) se expresará resultando en la producción de la molécula antigénica (37).

1.- Vacunas Recombinantes de Glicoproteínas .

Con la técnica del DNA recombinante y su aplicación a la producción de vacunas virales se han identificado y estudiado los sitios específicos en la superficie del virión que son importantes para inducir una respuesta inmunitaria. La detallada comprensión de estos sitios ha permitido diseñar las vacunas subunitarias que utilizan una de las proteínas virales o regiones específicas dentro de la estructura del polipéptido viral (10).

Las ventajas de estas vacunas respecto a las tradicionales son las siguientes:

- 1.- El uso de genes aislados impide la presencia de agentes infecciosos (10).
- 2.- Las complicaciones vacunales se reducen 'puesto que los componentes virales no esenciales, no están presentes en la vacuna (10).
- 3.- Las proteínas purificadas son generalmente más estables que las partículas virales (10).
- 4.- La producción puede hacerse en cantidades industriales y a bajo costo (10).

Las vacunas virales completas son capaces de expresar genes extraños pues tienen un genoma de RNA que codifica para múltiples genes.

Las vacunas virales vivas recombinantes (VV) son la expresión de genes extraños en transmisores virales como por ejemplo, los virus de la hepatitis, el herpes, el VSV, entre otras (41). Esta vacuna demostró proteger a animales de laboratorio al desafío con el agente correspondiente, sin observar signos clínicos atribuibles al virus recombinante (36).

En la biología molecular de vacunas virales (VV) y la secuencia específica de los nucleótidos de codificación de la glicoproteína viral rábica (G) permitió el desarrollo de la vacuna viral antirrábica glicoproteica (V-RG) de virus recombinante, conteniendo específicamente el gene G del virus rábico que expresa la proteína viral G rábica, capaz de inducir la formación de anticuerpos neutralizantes específicos contra rabia (VNA) y confiriendo inmunidad contra la rabia en el animal vacunado (41).

El virión rábico consta de 5 proteínas codificadas (N, NS (M1), M(M2), G y L) de las cuales solo 1, la G, cruza la doble capa lipídica de la envoltura y es capaz de producir anticuerpos neutralizantes rábicos y conferir protección contra la rabia (41).

La infección de cultivos celulares con la V-RG recombinante genera la producción de una proteína G rábica la cual reacciona fuertemente con los anticuerpos monoclonales neutralizantes de la rabia. Realmente el perfil de reacción de la G rábica recombinante con un panel de anticuerpos monoclonales fue considerablemente idéntico al obtenido con la cepa viral ERA nativa, atestiguando la autenticidad de la proteína recombinante G (41).

Al evaluar la producción de anticuerpos seroneutralizantes contra la infección rábica en perros, inoculándolos por vía subcutánea se encontró que todos los perros tuvieron una sobresaliente respuesta inmunitaria 14 días post-vacunación, y mostraron total protección al desafío con virus de "calle" a 69 días postvacunación (41).

Los perros que recibieron dosis vacunales por vía oral tuvieron una buena respuesta inmunitaria a los 28 días después de administrada la dosis vacunal (41).

Los gatos vacunados por vía subcutánea y oral también desarrollaron inmunidad contra la rabia. La máxima producción de anticuerpos seroneutralizantes se obtuvo al décimo día después de haber sido vacunados. La administración de vacuna por vía oral y subcutánea demostró ser segura y se obtuvo un alto título de anticuerpos (41).

Factores que deben considerarse en la inmunoprofilaxis:

En la vacunación hay dos factores importantes que considerar, la edad y la ruta de administración (11).

Respecto a la edad se realizaron estudios en los que cachorros de 11-16 semanas de edad vacunados con la cepa Flury LEP o HEP sobrevivieron al desafío con virus rábico, en tanto que cachorros de 5-10 semanas de edad vacunados de la misma forma no sobrevivieron (11).

En otro estudio con la misma cepa, aplicada en perros de más de 6 meses de edad respondieron mucho mejor a la vacunación con la cepa Flury LEP que perros jóvenes y sobrevivieron a la prueba del desafío (11).

En los Estados Unidos la política para vacunar a los perros considera que estos deben vacunarse a los 3 meses o más de edad, revacunando anualmente, sin considerar la duración que establezca la vacuna aplicada (11).

Las vacunas de virus vivo modificado cepa Flury producidas en embrión de pollo de bajo pasaje LEP se recomienda para perros y la vacuna de más alto pasaje HEP para los gatos (54).

Las vacunas de virus vivo modificado son más efectivas cuando se aplican por vía intramuscular, que subcutáneamente. Lo anterior se demostró en un estudio en el que 30/30 perros vacunados con Flury HEP intramuscularmente sobrevivieron al desafío, 3 años después, en tanto que los perros vacunados por vía subcutánea solo 17/30 perros sobrevivieron (11).

En otros estudios en que se administró una vacuna de virus muerto originada en tejido nervioso por vía intramuscular en perros protegió al 97% de los animales y al ser administrada por vía subcutánea sólo protegió al 78% (11).

A pesar de estos descubrimientos algunas vacunas de virus muerto pueden ser administradas por vía subcutánea sin afectar la inmunidad que confieren (11).

El área recomendada para la vacunación intramuscular son los músculos del muslo, pero la mejor región anatómica es el glúteo. La vacunación en los músculos lumbares se considera un factor predisponente para inducir la rabia vacunal (11).

La vacuna elaborada con la cepa ERA a partir de cultivos celulares se recomienda para perros pero no para gatos, ya que en ésta especie ha producido algunos casos de rabia postvacunal (54).

Por otra parte la OMS ha señalado que aún a pesar de la conveniencia de la aplicación de la vacuna de virus vivo modificado en zonas de alta incidencia de rabia en animales domésticos una vez dominada la enfermedad se debe preferir la inmunización con vacunas inactivadas (54).

Las ventajas de la aplicación de las vacunas antirrábicas inactivadas de cultivos celulares para inmunizar animales domésticos en comparación con las vacunas clásicas son las siguientes:

- ausencia de posibles agentes contaminantes en los cerebros de animales o huevos embrionados (54)
- ausencia de riesgo de pérdida de potencia en caso de romperse la cadena de frío como ocurre con las vacunas de virus vivo sobre todo en las no liofilizadas (54).
- ausencia de riesgo de rabia postvacunal al aplicar virus vivos Lep y ERA/SAD (54).

a.- Prevención y control de la rabia.

El lobo fue de los primeros animales domesticados. En el beneficio mutuo y la tolerancia se basó la coexistencia hombre-animal. Los perros, descendientes de los lobos, acompañaron a la humanidad por todo el mundo. Hoy los perros son estimados en muchas culturas, como amigos, compañeros, y colaboradores del quehacer humano, pero la convivencia con ellos genera problemas de salud pública (56).

Para solucionar estos problemas se han desarrollado modelos para el control de la rabia canina y felina, regulando la vacunación y restringiendo el desplazamiento animal (8)(29).

Actualmente se mantienen vigentes 3 propuestas para el control de la rabia en las especies animales para interrumpir la transmisión (8)(29).

- 1.- Restringir el desplazamiento animal en zonas urbanas, entre perros con dueño responsable y callejeros y gatos(8)(29)
- 2.- Eliminación de perros callejeros (8)(29)
- 3.- Vacunación de animales susceptibles (8)(96)

Para elaborar un programa de control antirrábico se debe considerar lo siguiente:

- 1.- Las interrelaciones persona-can (8)(29)
- 2.-Establecer propuestas compatibles con la cultura local para interrumpir la transmisión de la rabia (8)(29)
- 3.- Proponer alternativas para controlar la zoonosis (8)(29).

Plan Continental para la erradicación de la rabia Urbana. (Organizado por la OMS, OPS y países miembros (16)(29)

La problemática Latinoamericana para el control de la rabia radica en aspectos administrativos, operativos y de infraestructura. El personal calificado es insuficiente, hay falta de recursos, hay deficiencias en la producción y control de calidad de vacunas, fallas en los diagnósticos de laboratorio y observación de animales sospechosos (16)(29).

Para el establecimiento del plan Continental se deben tomar en cuenta 4 puntos: (16)(29)

1.- Recursos humanos. Evaluarlos a nivel Profesional, técnico y de intendencia en cuanto a : administración de programas, epidemiología, diagnóstico, producción y control de calidad de vacunas, entre otras (16) (29).

2.-Infraestructura. Disponibilidad de recursos, capacidad instalada y utilizada entre otras (16) (29).

3.- Punto crítico.(ruta crítica).- Producir o importar vacunas antirrábicas (de acuerdo a los recursos financieros) (16) (29)

4.- Recursos financieros. El programa no es autofinanciable, los recursos se obtendrían del Gobierno y la Comunidad (16) (29)

En cuanto a la vigilancia epidemiológica se deben corregir fallas en el registro y análisis de datos (16) (29).

Los programas subregionales consideran el riesgo de una reintroducción de la rabia a nivel fronteriza con los países libres, por lo que se estableció un sistema de vigilancia zoonositaria fronteriza, entre E.E.U.U. y México, Costa Rica y Panamá y Colombia y Venezuela (16) (29).

Se debe apoyar la producción nacional de vacunas (16) (29).

Consideraciones relativas a los programas nacionales:

1.Análisis del estado que guarda la infección rábica (16) (29).

2.- Definición y Organización del Programa. El control de la rabia compete a la Salubridad Pública Veterinaria (16) (29).

3.- Definición, evaluación y análisis de los recursos disponibles (16) (29).

5.- Administración del programa. se evalúa a nivel gerencial en cuanto a actividades y administración de recursos (16) (29).

6.- Supervisión de todos los niveles (16) (29).

El control de la rabia incluye la vacunación del 80% de la población canina estimada, desarrollar un sistema de vigilancia epidemiológica, proporcionar atención médica y tratamientos, verificar vigencia, potencia y calidad de vacunas antirrábicas, verificar diagnósticos de laboratorio, entre otras (16) (29).

Campañas antirrábicas desarrolladas en el ámbito internacional:

Para normar un criterio en relación a las acciones zoonositarias orientadas a la erradicación o combate antirrábico considero útil comentar las experiencias Brasileña y Peruana en este rubro.

Brasil, la campaña se aplicó de 1980-85 con carácter Federal. Abarcó 1000 localidades en 20 Estados y duró un día (4). Se contó con 100 000 vacunadores caninos (7) (29).

La campaña se promocionó durante 2 semanas en medios masivos de comunicación antes de realizarse (7).

Se observó un descenso progresivo en los casos de rabia humana y canina. En 1980 se reportaron 4 570 casos de rabia canina y 168 casos de rabia humana, en 1985 se redujo a 496 y 52 casos respectivamente (7)

Para la campaña se utilizó vacuna procedente de tejido cerebral de ratón lactante, inactivada con betapropiolactona (7)

La meta de la campaña fue inmunizar al 80% de la población canina, a partir del 1er mes de edad anualmente (7).

La campaña se organizó en 3 niveles:

Federal.- Coordinó la producción adquisición y distribución de vacunas a nivel Estatal.-

Estatal.- Elaboración de Material promocional de la campaña.

Municipal.- Desarrollo y aplicación de la campaña.

Responsabilidades del nivel Municipal:

a.- Planear, ejecutar y evaluar la campaña en su jurisdicción.

b.- Establecer puestos de vacunación canina.

c.- Capacitar a los vacunadores (7)

Los puestos de vacunación se establecieron en Centros de Salud, escuelas, clubes privados, clínicas veterinarias, entre otras. Los puestos de vacunación eran fijos y móviles, que inmunizaron en promedio a 250-300 perros. los vacunadores eran Médicos Cirujanos, Médicos Veterinarios, estudiantes de Biomédicas y secundaria, militares y voluntarios (7).

La campaña se difundió por medios masivos de comunicación, en los recibos de servicios públicos, supermercados, correos y se publicó la lista de puestos de vacunación en el periódico (7).

En la campaña se inmunizaron 8 882 563 perros (88.2% de la población canina estimada) (7).

Campaña antirrábica en Perú:

Duró un mes, abarcó al 65% de la población canina estimada (270,000 perros) y se usó una vacuna procedente de cultivo celular. Se observó un descenso en la ocurrencia de rabia humana y canina; de 292 casos caninos en 1985 sólo ocurrieron 3 casos después de la campaña (15).

En Lima Callao se programó la vacunación de 400,000 perros en un mes, estableciendo puestos de vacunación en los mercados y plazas públicas (15).

Para uso veterinario se aplicó una vacuna elaborada a partir de la cepa Pasteur PV 11 producida en líneas celulares de hámster, inactivada con betapropiolactona y como adyuvante hidróxido de aluminio. La vacuna resultó segura, estable e inmunogénica, confiriendo protección por 3 años (15).

Después de la campaña se presentaron 2 casos de rabia canina y 3 de felina. Después de marzo de 1985 no se han presentado casos de rabia humana (15)(29).

El promedio de casos de rabia humana reportados en las Américas durante el período 1976-1985, fueron de 300 casos/año (29).

A nivel mundial el 90% de los casos de rabia humana fueron ocasionados por perros infectados de rabia (29).

Recomendaciones para el control de la Rabia.

Ya sea que la infección rábica sea enzootica o epizootica, esta enfermedad puede ser controlada y erradicada en un tiempo razonable si se aplica un completo y adecuado programa de control (29).

XII.- ASPECTOS DE SALUD Y SALUBRIDAD PUBLICA:

La gran densidad de la población canina en zonas urbanas convierte al perro en el principal transmisor de la rabia. Incrementando la prevalencia y el riesgo de exposición a la rabia (6)

En los países subdesarrollados de cada 20,000 casos de rabia humana/año, el 99% tuvo como origen la mordedura de un perro (6)

El confinamiento, desplazamiento, conducta y vacunación canina ha dado lugar a su reglamentación (8).

En países industrializados existen leyes que confieren derechos a los animales y obligaciones a los dueños de mascotas (56)

El dueño aloja y alimenta a su mascota y es responsable de las actividades de su animal ante la comunidad y la salud pública de su país (56)

Para el año 2000 se estima que el 75% de los habitantes de Latinoamérica vivirán en zonas urbanas con graves problemas de servicios, vivienda, entre otras, incrementándose la población canina y roedores y aumentando la exposición a la rabia (19)

Según la OPS y CEPANZO, el número de personas agredidas por perros sospechosos de rabia se ha incrementado. En 1983 se presentaron 11 276 casos de rabia canina y 1,088 casos de rabia felina, en 1984 fueron 9,332 casos en perros y 667 casos en gatos. 620,000 personas fueron mordidas por perros y gatos recibiendo tratamiento postexposición casi la mitad (19).

se estima una población canina de 40 millones de perros y en 1984 fueron inmunizados 15 millones de perros (5)

El control antirrábico ha tenido éxito en países industrializados porque los ciudadanos cumplen las disposiciones zoonosanitarias y porque el gobierno tienen los recursos económicos necesarios (8)

a.- Reglamentación del Estado Mexicano:

En nuestro país se han publicado en el Diario Oficial de la Federación varios Reglamentos Antirrábicos como los del:

30 de Octubre de 1938, 9 de marzo de 1950, además de la Ley General de Salud y la Norma Técnica para la prevención y control de la Rabia en la atención primaria a la Salud, publicada en el Diario Oficial del 7 de julio de 1986 (50)

La Norma Técnica tiene carácter obligatorio para las unidades de salud públicas, sociales y privadas del país (49)

En el Capítulo II relativo a las medidas preventivas, señala en su artículo 42.- Que la prevención de la rabia se realizará informando al público sobre el problema de salud pública que representa la posesión de un perro, promover la vacunación anual, especialmente al perro, evitar la población canina callejera y la obligación de informar a las autoridades sobre la presencia de un animal sospechoso y la atención médica oportuna (49).

En cuanto al control, del reservorio, en el capítulo IV, artículo 16, se considera la estimación anual de la población canina

por el Programa de Prevención y Control de la Rabia, la realización de estudios epizootiológicos, vacunación de perros mayores de 3 meses de edad, captura y eliminación humanitaria de perros callejeros, sacrificio de animales agredidos por animales rabiosos, si no están vacunados y observación del animal 6 meses si está vacunado y el envío permanente al laboratorio de referencia de cerebros de animales sospechosos de rabia que hayan agredido o no para conocer la endemia y esterilización de la rabia canina (49).

En cuanto a la ley General de Salud, los artículos 134, 135, 139, 141, 156, 404 y 409 se avocan a realizar una vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmisibles como la rabia y otras zoonosis. Observar contactos humanos y animales, además de prevenir y tratar estos casos, e investigar, prevenir y controlar las enfermedades transmisibles. Realizando las diversas acciones en forma conjunta con las autoridades competentes para controlar los restos animales infectados por zoonosis y realizando las actividades de cuarentena vacunación animal y aislamiento (50).

XIII.- CONCLUSIONES:

Los conocimientos incorporados durante la década 1981-1991 en lo relativo a avances en la infección rábica en la especie canina, son los siguientes:

1.- Para el diagnóstico alterno de la rabia utilizando el método de inmunofluorescencia, se pueden utilizar cortes de piel a nivel de folículo piloso cuando el cerebro de animales sospechosos se ha necrosado (6) (17) (34) (39) (58).

2.- El lavado ocular post-mortem de animales sospechosos puede ser una alternativa diagnóstica utilizando la técnica de cultivo celular (58).

3.- En vista de que en la técnica de cultivo celular las líneas de neuroblastomas murido son más susceptibles a la infección por cepas de virus de "calle" ésta tecnología esta reemplazando en algunos laboratorios a la inoculación en ratones (34) (39).

4.- Hay evidencias concretas de que la presencia de anticuerpos neutralizantes en el líquido cefaloraquídeo tiene un significado especial en la sobrevivencia de animales infectados de rabia (31).

5.- Las vacunas de glicoproteínas recombinantes han producido una respuesta inmunitaria sobresaliente administradas por vía subcutánea en perros mostrando una total protección al desafío con virus "calle" a los 69 días post-vacunación. Los perros vacunados por vía oral con este biológico obtuvieron una buena respuesta 28 días después de administrada la vacuna (31).

Los gatos vacunados por las vías oral o subcutánea también quedaron protegidos contra la infección rábica al décimo día post vacunación (31).

6.- En cuanto a las vacunas virales se descubrió que la actividad inmunogénica de los virus esta vinculada a un fragmento inmunogénico viral causante de la reacción protectora contra la enfermedad (38).

7.- Aunque el uso de vacunas de virus vivo modificado esta justificado en zonas donde la rabia canina tiene una alta incidencia una vez que se haya controlado la infección debe preferirse la inmunización con vacunas inactivadas (54)

8.- Es conveniente aplicar vacunas que confieran inmunidad de tres años contra la infección rábica con la finalidad de aumentar el número de perros y gatos vacunados en los programas de antirrábicos (54).

9.- La OMS recomienda que siempre que sea posible económica y técnicamente, se limite o abandone la producción de vacunas encefalolitógenas de tejido cerebral y promueve la producción y uso de vacunas antirrábicas inactivadas en cultivos celulares, en países en desarrollo y desarrollados (54).

XIV.- LITERATURA CITADA:

- 1.- Acha, N.P. y Szyfres, B.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al Hombre y los Animales. Publicación Científica 503, Segunda Edición, Organización Mundial de la Salud, Estados Unidos de Norteamérica, 1986. p. 511.
- 2.- Atanasiu, P.: El Virus de la Rabia. Sal. Publ. Méx. Vol. XVI, 3.: 345-351. (1974).
- 3.- Atanasiu, P.: Patogenia de la Rabia. Sal. Púb. Méx. Vol. XVI. 3.: 357-360 (1974)
- 4.- Atanasiu, P.: Consideraciones Sobre los Nuevos tipos de Vacunas Antirrábicas. Sal. Publ. Méx. XVI, 3.: 437-442 (1974)..
- 5.- Baer, M.G.: Animal Models in the Treatment of Rabies. Infect. Dis. Rev. 10. supp. 4.: s739-s750 (1988).
- 6.- Batalla, C.D.: Prevención y Control de la Rabia en Humanos y otras Especies. En Inmunología Veterinaria, Editado por; A. Morilla González. Primera Edición, Editorial Diana. México D.F., agosto 1989. p. 398-399.
- 7.- Belloto, A.J.: Organization of Mass Vaccination for Dogs Rabies in Brazil. Infect. Dis. Rev. 10. supp.4: s693-s696. (1988).
- 8.- Beran W.G. and Frith, M.: Domestic Animal Rabies Control. An Overview. Infect. Dis. Rev. 10 supp. 4.: s672-677. (1988).
- 9.- Blancou, J.: Epizootiology of Rabies: Eurasia and Africa. In; Rabies. James B. Campbell and K.M. Charlton. Edited by: First Edition, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p.323-334.
- 10.- Brown, F.: The Next Generation of Virus Vaccines. Veterinary Viral Diseases. Their significance in South-East Asia and the Western Pacific. Academic Press Australia. Geelon Australia. (August 1984). p.149-157.
- 11.- Bunn, T.O.: Vaccines and Vaccination of Domestic Animals. In; Rabies, Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton. Kluwer Academic Publishers. Massachusetts, United States of America, 1988. p. 323-334.
- 12.- Campbell, J.B. and Barton, L.D.: Serodiagnosis of Rabies: Antibody Tests. In; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p. 47-66.
- 13.- Centro Panamericano de Zoonosis. Provincia de Buenos Aires, República Argentina. 1987.
- 14.- Charlton, K.M.: The Pathogenesis of Rabies. In; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p.101-150.
- 15.- Chomel, B, Chappuis, G., Bullon, F., Cárdenas, E., Beublain de T.D., Lombard, M. and Giambruno, E.: Mass Vaccination Campaign Against Rabies: Are Dogs Correctly Protected?. The Peruvian Experience. Infect. Dis Rev. 10 supp.4.: s697-s702. (1988).
- 16.- Cifuentes, E.E.: Program for the Elimination of Urban Rabies in Latin America. Infect. Dis. Rev. 10. supp. 4.: s-689-692 (1988).
- 17.- Correa, G.P.: La Rabia: Manifestaciones Clínicas, Transmisión, Prevención y Tratamiento. En; Ciencia Veterinaria, Volumen III. Editado por; R. Moreno Chan, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 1981. p. 104-124.

- 18.- Dean, J.D.: The Fluorescent Antibody Test. Laboratory Techniques in Rabies. Second Edition. World Health Organization. Geneva. 1966.
p.59-68
- 19.- Escobar, C.E.: Program for the Elimination of Urban Rabies in Latin America, Infect. Dis. Rev. 10. supp. 4.: s689-s692. (1988).
- 20.- Fábrega, P.F., Sepúlveda, C., González, A.E., y González, G.S.: Comparación de los títulos de Anticuerpos Antirrábicos Seroneutralizantes en Perros Primo-Inmunizados con vacuna Antirrábica Fuenzalida-Palacios en estado líquida y liofilizada. Bol. Ins. Sal. Pub. Chi. XXIV (1-2): 32-37 (1983).
- 21.- Fenner, F. and Bachman, A.P.: Veterinary Virology. II. Academic Press Inc. Estados Unidos de Norteamérica, 1987. p.531-540.
- 22.- Fröhner, E., y Zwick, G.: Patología y Terapéuticas Veterinarias. II Tomo. Enfermedades Infecciosas. Gustavo Gili Editor, España, 1926.
p. 480-481.
- 23.- Fuenzalida, E.: Consideraciones sobre la Vacuna en Cerebro de ratón lactante. Sal. Púb. Méx. XVI 3: 443-450 (1974).
- 24.- González, S.D., Hernández, B.E. y Campos, V.J.: Respuesta Serológica a la Vacunación Antirrábica en Cachorros Beagle a los 2, 4 y 5 meses de edad precedentes de Madres Vacunadas y no Vacunadas. Tec. Pec. Mex. 44.: 107-115 (1983).
- 25.- Hayashi, Y., Montaña, J.A. y Mora, E.: Situación de la Rabia Humana y Canina en Brasil-1984. Arg. Biol. Tecnol. 29(4): 553-570 (1986).
- 26.- Hernández, B.E.: El Virus Rábico: Morfología, Morfogénesis y Crecimiento en Cultivos Celulares. En; Ciencia Veterinaria. Volumen III. Editado por R. Moreno Chan. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1981. p. 1-34.
- 27.- King, Arthur and Crick, J.: Rabies-Related Viruses. In; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton. Kluwer Academic Publishers. Massachusetts, United States of America, 1988. p.177-200.
- 28.- Koprowski, H.: Mouse Inoculation Test. Laboratory Techniques in Rabies. Second Edition. World Health Organization. Geneva. 1966.
p.69-80.
- 29.- Larghi, O.P., Arrosi, J.C., Nakajata-A, J. and Villa-nova, A.: Control of Urban Rabies. In; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p. 407-422.
- 30.- Lepine, P.: Histopathological Diagnosis. Laboratory Techniques in Rabies. Second Edition. World Health Organization. Geneva. 1966.
p.42-58.
- 31.- MacFarlan, R.I.: Immune Responses to Rabies Virus: Vaccines and Natural Infection. In; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p. 163-176.
- 32.- Makonnen, F.: Pathogenesis of Rabies Virus Infection in Dogs. Infect. Dis. Rev. 10 supp. 4.: s678-683 (1988).
- 33.- Martínez, B.M.: La Invencción de la Vacuna Antirrábica, Obra Cumbre de Pasteur. Sal. Publ. Méx. XVI, 3.: 337-344 (1974).
- 34.- Mejía, S.P., Avila, F.D. y Velázquez, V.J.M.: Identificación del Virus de la Rabia mediante la técnica de Anticuerpos Fluorescentes en Cortes de piel en Caninos Infectados en Forma Natural. Reunión de Investigación Pecuaria en México. México D.F. 3-5 noviembre 1986. p 265. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México D.F. (1986).

- 35.- Meneses, V.A. y Vega C.M.: Patología de la Rabia. Sal. Publ. Méx. XVI, 3.: 365-377 (1974).
- 36.- Mohanty, B.S. and Dutta, K.S.: Veterinary Virology. Third Edition. Lea & Febiger United States of America, Philadelphia. 1981. p 32-33, 217-223.
- 37.- Morilla, G.A. y Arriaga, D.C.: Avances en Vacunas. En Inmunología Veterinaria. Editado por A. Morilla González. Primera Edición. Editorial Diana, México, Agosto 1989. p.386-396.
- 38.- Ohjeski, J.: Vaccines Produced by Recombinant DNA Technology. Veterinary Viral Diseases. Their significance in South-East Asia and the Western Pacific. Academic Press Australia. Geelon Australia. (August 1984). p.142-148.
- 39.- Office International Des Epizzoties.: Recommended Diagnostic Techniques and Requeriments for Biological Products. Volume I. Office International Des Epizzoties. Paris, France, 1989. p. B/ 2-4.
- 40.- Pérez, H., González, D., Fernández, M., Hernández, E., Oros, D., Martell, M. y García, F.: Inmunidad Provocada por la Cepa V-319/Acatlán en perros a los 30 meses de la Vacunación. Tec. Pec. Méx. 41.: 76-79 (1981).
- 41.- Rupprecht, C.E. and Kieny, M.P.: Development of a Vaccina-Rabies Glycoprotein Recombinant Virus Vaccine. In; Rabies. James B. Campbell and K.M. Charlton, Edited by: Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p.25-46.
- 42.- Salido, R.F.: Patología y Patogenia. Sal. Publ. Méx. XVI, 3.: 361-363 (1974).
- 43.- Salido, R.F.: Envío de Especímenes al Laboratorio, preparación de muestras, técnicas de exámen y diagnóstico de laboratorio. Sal. Publ. Méx. XVI, 3.: 385-339 (1974).
- 44.- Salido, R.F.: Vacunas Antirrábicas, aplicación, indicaciones y resultados. Sal. Publ. Méx. XVI, 3.: 489-503 (1974).
- 45.- Smith, S.J. and Baer, M.G.: Epizzotology of Rabies: The Americas. In: Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p.267-300.
- 46.- Sagardía, R.J. Hernández, B.E., Gonzalez, S.D., Fernández, S.M. y Pérez, R.H.: Duración de la Inmunidad Conferida por la Vacuna V-319/Acatlán contra la Rabia en Perros con desafío a un año de la Vacunación. Tec. Pec. Méx. 43.: 87-91 (1982).
- 47.- Secretaría de Salubridad y Asistencia. Epidemiología. Boletín. Vol. 1. No. 7.: 1-7 (1981).
- 48.- Secretaría. de Salubridad y Asistencia. Reglamento de la Campaña Antirrábica. Diario Oficial de la Federación. 9 de marzo de 1950. Estados Unidos Mexicanos.
- 49.- Secretaría de Salud. Norma Técnica para el Control de la Rabia. Diario Oficial de la Federación. 7 de julio de 1986. Estados Unidos Mexicanos.
- 50.- Secretaría de Salud. Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación.
- 51.-Steele, H.J.: Historia de la Rabia. En; Historia Natural de la Rabia. Editado por George M. Baer, Primera Edición, La Prensa Médica Mexicana, México, 1982. p. 1-30.
- 52.- Steele, H.J.: Rabies in the Americas and Remarks on Global Aspects. Infect. Dis. Rev. 10. supp. 4.: s585-s597. (1988).

- 53.- Sureau, P.: History of Rabies: Advances in Research Towards Rabies Prevention During the last 30 years. Infect. Dis. Rev. 10. supp.4.: s581-s584. (1988).
- 54.- Sureau, P.: Nuevas Vacunas y Nuevos Procedimientos de Inmunización para un Control Completo de la Rabia. Simposium Internacional sobre Rabia, Vigilancia Epidemiológica y Prevención. México, D.F. Mayo 1990. p. 1,5,6,16,17,22-29. Pasteur Mériux, Rhone Meriux. Paris, France. (1990).
- 55.- Tierkel, S.E.: Rabia Canina. En; Historia Natural de la Rabia. Editado por George M. Baer. Primera Edición, La Prensa Medica Mexicana. México, 1982. p.32, 35, 38.
- 56.- Wandeler, I.A., Budde, A., Capt, S., Kappeler, A. and Matter, H.: Dog Ecology and Dog Rabies Control. Infect. Dis. Rev. 10. supp. 4.: s684-s688 (1988).
- 57.- Wandeler, I. A.: Control of Wildlife Rabies: Europe.: In; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p.371-372.
- 58.- Webster, A.W. and Casey, A.G.: Diagnosis of Rabies Infection. En; Rabies. Edited by: James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p.201-222.
- 59.- White, O.D. and Fenner, F.: Medical Virology, Third Edition. United States of America. 1987.
- 60.- World Health Organization.: Guidelines for Dog Rabies Control. Division of Communicables Diseases. World Health Organization. Geneva, Switzerland, March 1984. Annex 5-23.
- 61.- Wilkinson, L.: Understanding the Nature of Rabies: An Historical Perspective. En; Rabies. Edited by; James B. Campbell and K.M. Charlton, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, United States of America, 1988. p. 1-24.
- 62.- Wunner, H.W., Larson, K.J., Dietzschold, B. and Smith, L.C.: The molecular Biology of Rabies Viruses. Infect. Dis. Rev. supp. 4.: s771.s784 (1988).