Oralia Domínguez Cornelio

Tesis Profesional

1967

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ALGUNOS ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE LA RABIA EN MURCIELAGOS.

ORALIA DOMINGUEZ CORNELIO

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1967

A LA MEMORIA DE MI PADRE

CON MI GRATITUD A MI MADRE
Y HERMANOS.

A MI ESPOSO E HIJA

CON MI MAS SINCERA GRATITUD
A LA SRITA Q.F.B. BERTHA ALVAREZ L.
SIN CUYA AYUDA Y CONSEJOS NO SE
HUBIERA PODIDO REALIZAR EL PRESENTE
ESTUDIO.

INTRODUCCION

La rabia es uno de los problemas epidemiológicos actuales, de gran importancia y cuyo control es muy deseable, toda vez que su ciclo de transmisión va de los animales de vida silvestre al hombre, ya sea directamente, o bien, a través de una serie de eslabones (9,14,15).

Aunque aún no se conoce en su totalidad el ciclo de transmisión de la rabia, los mecanismos que le hacen efectivo, ni la forma exacta de cómo ocurre en la naturaleza, sí en cambio, se conocen unas partes del ciclo y de otras se tiene cierta evidencia (14, 15,17,18).

Se considera que teóricamente, el control de la rabia depende de la reducción y de ser posible de la eliminación de la enfermedad, en las poblaciones animales que sirven de reservorio o de vector de la infección (20).

Desde luego, cabe aclarar que la mayor atención en este problema epidemiológico, se ha dado siempre a la profilaxis contra la rabia en humanos, pero de hecho incluye medidas que llegan hasta los animales silvestres (14).

Por cuanto se refiere a las medidas profilácticas contra la rabia en humanos, éstas se han dividido en dos categorías: aquellas tomadas antes de la mordedura infectante y las tomadas después de ella (14). En el primer caso, las medidas profilácticas se enfocan en 3 distintas formas, a).- aquellas medidas que ayuden a disminuir o a eliminar el contacto entre animales potencialmente infectado y el hombre; b).- aquellas medidas que estén dirigidas para controlar la rabia en animales domésticos y en animales silvestres como lobos, coyotes, zorras, zorrillos, etc.; c).- aquellas medidas en que se requiera en forma específica la protección de las personas contra la rabia, porque van a estar expuestas directamente al peligro (14).

Las medidas profilácticas en el segundo caso, o sea, después de la mordedura infectante, se refieren a limpieza local y a inmunización. La limpieza local tiene dos objetivos primordiales: 1).- la disminución y de ser posible la eliminación del inóculo de virus de rabia, en el lu-

gar de la mordedura y 2).- la eliminación de otros gérmenes que obviamente, pueden estar contenidos en la saliva y ser transmitidos en el momento que ocurre la mordedura. Por cuanto se refiere a la inmunización, ésta puede lograrse por simple vacunación del hombre cuando la exposición sea leve, o bien cuando la exposición sea grave o cuando un animal salvaje muerda sin haber sido provocado, habrá de aplicarse tratamiento general completo de suero antirrábico y vacuna. En el ganado y en los animales domésticos, la inmunización se logra por simple vacunación.

El tratamiento de las mordeduras con ácidos, es un método clásico muy efectivo; sin embargo, habiendo otros métodos que a mas de ser muy efectivos, son menos dolorosos y que no producen cauterizaciones, son desde luego, los métodos de elección (14,20).

Si se enfoca nuestra atención hacia aquellas medidas que estén dirigidas a controlar la rabia en animales domésticos y en animales silvestres, para proteger al humano y a su

economía, necesariamente se enfoca esa atención hacia el ganado y hacia los murciélagos (1,4,6,7,9,15,16). Es notable que los murciélagos, como reservorio, pueden mantener la infección en áreas silvestres, explicándose así en parte, que con ello hacen posible la repentina aparición de la rabia en animales carnívoros de vida silvestre, en las mas diversas zonas geográficas (7,9,11,22). Es por eso muy importante saber cuales son las especies de murciélagos que están infectadas con rabia y mas importante aún es saber, cuales de las especies infectadas con el virus de la rabia, son verdaderamente importantes en la transmisión de la enfermedad.

Tanto en murciélagos hematófagos como en murciélagos frugívoros se ha demostrado que son capaces de transmitir la enfermedad, de la que pueden recuperarse permaneciendo como portadores asintomáticos (7). En general, la conducta de los murciélagos infectados va desde aquella aparentemente normal hasta la agresiva; sin embargo, mas de la mitad de los murciélagos enfermos o moribundos que se han encontrado,

han resultado positivos a rabia; posiblemente ya la enfermedad en sí es responsable de su descubrimiento, porque en la mayor parte de los casos, se trata de animales que han mostrado una conducta extraña, ajena a sus hábitos normales; esa conducta anormal hace ya de por sí notoria su presencia en un lugar determinado, motivando desde luego su captura (4,7,9,10, 15).

Por otra parte, es indispensable tener presente que en la naturaleza, la infección por rabia ocurre en forma inaparente en gran cantidad de murciélagos, a juzgar por la presencia de virus de rabia o de los anticuerpos neutralizantes a dicho virus en algunas especies estudiadas (1,6,7,23). Además, se considera que casi la mitad de los murciélagos infectados con rabia, no presentan síntomas de enfermedad y que si bien el virus de la rabia está presente en su saliva, en cambio, no necesariamente lo está en el cerebro de estos animales (6,14,20,23). En estas condiciones, con los métodos convencionales de diagnósticos rutinario, restringido al es-

tudio del cerebro, para buscar cuerpos de Negri, se pierde con frecuencia la oportunidad de hacer un idagnóstico positivo a rabia (9).

Teniendo como antecedente el hallazgo de virus de rabia en riñón, así como en otros tejidos de vampiros de la especie Desmodus rotundus, resulta muy interesante e importante, tratar de averiguar además, cuál es la suerte que corre dicho virus después de llegar al riñón (23).

En este estudio se presentan los resultados del análisis hecho en siete vampiros de la especie Desmodus rotundus, para determinar en ellos, la presencia o ausencia de rabia, mediante las técnicas de anticuerpos fluorescentes, FA, de aislamiento de virus por inoculación de ratones y de la prueba de neutralización.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron siete vampiros de la especie *Desmodus rotundus*, capturados en la cueva de la posa de Moctezuma, 2 Km. al este de Cuautepec, Mor., seis de los siete vampiros se mostraron aparentemente sanos y sólo uno mostró síntomas de enfermedad. Estos vampiros fueron sacrificados sangrándolos por punción cardíaca; el suero así obtenido se usó para estudiar la presencia de anticuerpos específicos a rabia. De cada uno de estos siete ejemplares se extrajeron además, en condiciones de esterilidad: cerebro, glándula interescapular, glándulas salivales, riñón, vejiga y orina.

Mediante las técnicas de anticuerpos fluorescentes (FA), de inoculación de ratones para el aislamiento de virus y de pruebas de neutralización, se estudió el material mencionado en el párrafo anterior, para determinar en forma directa o indirecta, la presencia o ausencia del virus de la rabia (20).

Para hacer estos estudios y aplicar las técnicas antes mencionadas, se utilizó virus de la rabia, cepa CVS

proporcionada por los National Institutes of Health, U.S. Public Health Service.

El suero hiperinmune patrón, que se empleó aquí, fué adquirido en el Instituto de Higiene de la Secretaría de Salubridad y Asistencia de la Ciudad de México.

Tanto el conjugado antirábico, como la rodamina usados en la técnica de FA, se obtuvieron de Baltimore Biological Laboratory (B.B.L.).

En un caso, el aislamiento de virus de rabia se comprobó determinando la presencia de cuerpos de Negri, según la técnica de Seller (19).

La forma en que se usó el material obtenido de los vampiros y las técnicas que se aplicaron a dicho material, se describen a continuación:

ANTICUERPOS FLUORESCENTES.- Con la técnica de anticuerpos fluorescentes, FA, de Cherry y Col. (6), se estudiaron cerebro, glándula interescapular, glándulas salivales y riñón. En el caso del cerebro, se estudiaron la asta de las

astas de Ammon, corteza cerebral y cerebelo.

La técnica se desarrolló en la forma siguiente: usando la misma zona de un mismo tejido, se prepararon dos improntas en un portaobjetos; se dejaron secar a temperatura ambiente durante 5 minutos y después se fijaron en acetona a -20°C durante cuatro horas. Después de fijadas las improntas en acetona, los portaobjetos se secaron y se conservaron en el congelador, también a -20°C hasta el momento de hacer la tinción.

Llegado el momento de hacer la tinción, las láminas portaobjetos se dejaron adquirir la temperatura ambiente, después de lo cual, se limitó con un círculo el área de tinción de cada una de las improntas. El círculo se hizo con material plástico "Hartex".

Por otra parte, se prepararon dos suspensiones (a) y (b), con el conjugado antirábico; este conjugado consiste en suero hiperinmune marcado con isotiocianto de fluoresceína (FITC).

La suspensión (a), se preparó mezclando un volumen del conjugado con otro volumen igual de una suspensión al 20% de cerebro normal de ratón.

La suspensión (b), se preparó mezclando un volumen del conjugado, con otro volumen igual de una suspensión al 20% de cerebro de ratón con virus de rabia de la cepa CVS. Se esperan cinco minutos en ambos casos.

En estas condiciones, se coloca una gota de la suspensión (a), en una de las dos impromtas del portaobjetos y una gota de la suspensión (b), se coloca en la otra impronta.

Cada gota se extiende hasta cubrir totalmente el área de tinción. Incubar en cámara húmeda a 37°C, durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se lavan las láminas con solución salina buffer de fosfatos de pH 7.2, (Solución A

Na_2HPO_4, 1.4 gm, Solución B, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 1.4 gm., y se llevan a 100 c.c. cada una, medir 84.1 c.c. de Solución A y 15.9 de solución B. En 900 c.c. de solución salina al .85% agregar la mezcla de fosfatos). Acto seguido, se introducen las láminas en una solución salina buffer, donde se dejan durante 10 minutos. Después se lavan con agua fría otros diez minutos. Secar a temperatura ambiente y montar en glicerina buffer de pH 7.0 (8).

Observar al microscopio de luz ultravioleta, colocando una gota de aceite de inmersión Cargille's tipo B, sobre el cubreobjetos y otra gota sobre el condensador del microscopio.

En caso necesario, después de hacer la tinción fluorescente se puede hacer una coloración de contraste usando rodamina. Para ello se elimina la glicerina buffer de los porteobjetos, lavando con solución salina buffer. Secar a temperatura ambiente y agregar una gota de rodamina sobre cada impronta. Incubar en cámara húmeda a 37°C durante dos

horas. Repetir el lavado de la lámina con solución salina buffer y continuar la técnica hasta montar la preparación en glicerina buffer, según se describió antes para la tinción fluorescente.

Si el tejido en estudio contiene virus de rabia, en la impronta sobre la que se colocó la suspensión (a), se observarán zonas fluorescentes específicas a rabia, en un color verde amarillento conocido como "verde manzana". En la otra impronta tratada con la suspensión (b), no se observará estas zonas fluorescentes en color verde manzana.

Además de las láminas con improntas de los tejidos en estudio, se prepararon unas láminas de control positivo, usando cerebro de ratones inoculados con virus de rabia, cepa CVS; otras láminas que sirvieron de control negativo, se prepararon a partir de cerebros de ratones normales.

AISLAMIENTO DE VIRUS DE RABIA.- Para el aislamiento de virus de rabia (19), se usaron cerebros, glándula interescapular, glándulas salivales, riñón, vejiga y orina, que

fueron obtenidos en condiciones de esterilidad, a partir de cada unoede los vampiros en estudio.

Con excepción de cerebro y orina, con cada uno de los tejidos se preparó una suspensión al 10%, usando como diluyente solución salina con 5% de suero normal de conejo. De esta suspensión se inocularon 0.03 cl. por vía intracerebral, a cada uno de seis ratones, de una semana de edad.

Con el cerebro se preparó una suspensión al 20%, usando el mismo diluyente empleado en el caso anterior y se inocularon igualmente en seis ratones de una semana de edad.

Por cuanto a la orina, con ella se hicieron dos diluciones, una al 20% y otra al 50%; el diluyente usado, fué siempre el mismo que se usó en los otros casos, es decir, solución salina con 5% de suero normal de conejo. Con cada una de estas diluciones se inocularon seis ratones de una semana de edad y seis de cuatro semanas de edad.

Todos los ratones se observaron durante 30 días, desechándose aquellos que morían dentro de las primeras 72 ho-

ras, después de la inoculación.

PRUEBAS DE NEUTRALIZACION.- El suero de los vampiros se usó para estas pruebas (19), a una dilución final de 1:4, frente a 100 LD_{50} de virus de rabia, de la cepa CVS, la mezcla suero-virus, se incubó a 37°C durante hora y media y después de este período de incubación, se mantuvo en agua de hielo mientras se hacían las inoculaciones en ratones.

Cada una de estas mezclas de suero-virus fueron inoculadas por vía intracerebral, en seis ratones de cuatro semanas de edad. Los ratones se observaron durante 30 días, antes de dar por concluída la prueba.

RESULTADOS

Puede verse que con la técnica de anticuerpos fluorescentes, FA, seis de los siete vampiros son positivos a rabia (Tabla 1).

Los cerebros de estos seis ejemplares son, sin excepción, positivos a rabia; de ellos, dos son además positivos en glándula interescapular y cuatro lo son en glándulas salivales. De estos últimos cuatro ejemplares mencionados, dos son también positivos en riñón (Tabla 2).

Si se considera el número de tejidos de cada vampiro, que son positivos a rabia, según técnica de FA (Tabla 2), se tiene lo siguiente:

En un sólo caso, el del vampiro 5-V, las pruebas son positivas exclusivamente en cerebro. En dos vampiros, los números 2-V y 4-V, las pruebas son positivas a rabia en dos tejidos; en el primer caso, en cerebro y en glándulas salivales y en el segundo caso, en cerebro y en glándula interescapular.

En tres ejemplares, la pruebas de FA son positivas a rabia en tres tejidos, siendo en dos de tres de ellos (1-V y 3-V), cerebro, glándulas salivales y riñón, los tejidos positivos; en el tercer ejemplar son el cerebro, la glándula interescapular y las glándulas salivales, los tejidos positivos a rabia.

En la Tabla 1 podrá observarse que sólo en un caso, el del vampiro 7-V, logró aislarse virus de rabia, a partir del cerebro de ese ejemplar. Este aislamiento hecho en ratones, quedó comprobado mediante las técnicas de FA y de Seller.

Con los sueros de seis de los siete ejemplares, se hicieron las pruebas de neutralización y en cinco de ellos, las pruebas resultaron positivas a rabia (Tabla 1).

TABLA 2

Uso de la técnica de anticuerpos fluorescentes (FA) en el diagnóstico de rabia, en algunos tejidos de siete vampiros *Desmodus rotundus*.

Vampiro No.	Tejidos' FA +	Total
5-V	a	1
2-V	a, c a, b	
1-V	a, c, r a, c, r a, b, c	3
6-V	-	1

' Véase la Tabla 1.

TABLA 1

Uso de tres distintas técnicas para determinar la presencia de virus de rabia en siete vampiros, *Desmodus rotundus*.

Vampiros	Tejidos	FA	Aislamiento virus. Inoculación ratones.	Neutralización
1-V	a	+	-	
	b	-	-	
	c	+	-	
	r	+	-	
	v		-	
	s			+
	orina		-	
2-V	a	+	-	
	b	-	-	
	c	+	-	
	r	-	-	
	v		-	
	s			+
	orina		-	
3-V	a	+	-	
	b	-	-	
	c	+	-	
	r	+	-	
	v		-	
	s			-
	orina		-	
4-V	a	+	-	
	b	+	-	
	c	-	-	
	r	-	-	
	v		-	
	s			+
	orina		-	
5-V	a	+	-	
	b	-	-	
	c	-	-	
	r	-	-	
	v		-	
	s			+
	orina		-	
6-V	a	-	-	
	b	-	-	
	c	-	-	
	r	-	-	
	v		-	
	s			+
	orina		-	
7-V	a	+	+	
	b	+	-	
	c	+	-	
	r	-	-	
	v		-	
	s			No se hizo.
	orina		-	
Total		+FA = 6	+ = 1	+ = 5

a = cerebro
b = glándula interescapular
c = glándulas salivales
r = riñón
v = vejiga

s = sangre
o = orina
FA = Anticuerpos fluorescentes
+ = positivo
- = negativo

DISCUSION

La rabia en los vampiros es una infección asintomática de las glándulas salivales; el virus en este huésped tiene un espectro de patogenicidad diferente al del virus de la rabia canina y su capacidad para invadir las glándulas salivales, la glándula interescapular (grasa café), corazón, pulmones, glándulas suprarrenales, bazo y riñones, hace posible el desarrollo de ciclos de infección no asociados con la encefalitis y además, como vector asintomático puede transmitir la rabia durante meses (4,5,17,18,23).

Con los estudios hechos en Brasil por Queiroz-Lima (1934) en vampiros, se tuvo la primera evidencia de un mamífero como reservorio de la rabia, pues sirve como huésped del virus en condiciones tales que no lo destruye, ni muestra síntomas de enfermedad en muchos casos, aún cuando el virus se aisle posteriormente de varios tejidos de esos huéspedes; todo parece indicar que hay una relación muy bien equilibrada entre virus y huésped (5,7,18,22). En cambio, la enfermedad en carnívoros llega a estar

limitada al animal mismo, cuando es producida por un virus altamente neurotrópico que destruye al huésped, llegando inclusive a interrumpirse por esta causa la cadena de infecciones (15).

Sin embargo, el virus de rabia obtenido a partir de un tejido infectado, no es un solo tipo de virus, sino una mezcla de tipos; en un primer paso por vía intracerebral, en ratones, es mayor el crecimiento del virus de tipo neurotrópico, que el crecimiento de otros tipos, esto no quiere decir que la capacidad de éstos últimos para crecer en algunos tejidos, distintos al nervioso, se haya perdido (Koprowski, mencionado por Brahman)(5).

El virus natural, puede ser alterado rápidamente por paso en huéspedes caninos, en cuyo cerebro el virus se multiplica con mayor rapidez, su distribución está mas generalizada en éste órgano y muestra un menor tropismo por las glándulas salivales (18).

En realidad, puede considerarse que hay dos tipos

de rabia: la enfermedad natural como se presenta en animales silvestres, como es el caso de los murciélagos y la enfermedad, de tipo encefalítico, que se mantenida principalmente en perros (especies canimus)(18,21). Por tanto, la perpetuación del virus no depende del desarrollo de encefalitis en el animal infectado, sino de un ciclo en el que intervienen otros tejidos distintos del nervioso, en especial el tejido de las glándulas salivales, toda vez que la transmisión de la rabia se hace mediante la mordedura (4,5,17,18).

Los aspectos morfológicos del virus de rabia, observados en cultivos de tejidos, recuerdan aquellos propios de los mixovirus y hacen pensar que el virus de la rabia fué originalmente y esencialmente un virus de las glándulas salivales (2).

El sitio de multiplicación de las variedades no neurotrópicas del virus de rabia, en sus huéspedes mamíferos es, de hecho, desconocida; pudiere ser que este tipo de virus circule en la sangre, pero su presencia no puede ser demos-

trada mediante la inoculación en ratones, porque no produce encefalitis (18,22).

De una otra característica del virus encontrado en murciélagos, su tendencia a no producir cuerpos de Negri; este virus además, es generalmente menos neurotrópico, a juzgar por la infección asintomática observada con frecuencia no sólo en vampiros, sino además en otras especies de murciélagos (5,18).

Posiblemente éste sea en parte, la explicación de haber logrado el aislamiento de virus de rabia en uno solo de los siete vampiros aquí estudiados, a pesar de que los siete ejemplares resultaron positivos a rabia, tanto con la técnica de anticuerpos fluorescentes, como con la prueba de neutralización, o antes. Es necesario hacer notar que ese único aislamiento logrado, se hizo a partir del cerebro del vampiro que ya mostraba síntomas de enfermedad. En ninguno de los otros casos se logró el aislamiento de virus de rabia, aunque se hizo la inoculación de cada uno de los

cuatro distintos tejidos estudiados por cada vampiro; cada tejido se inoculó en forma de suspensión, por vía intracerebral, en ratones de una semana de edad, según se explicó previamente.

Por otra parte, estudios previos hechos en vampiros, en murciélagos frugívoros y en insectívoros, han mostrado, mediante el uso de la técnica de anticuerpos fluorescentes, FA, que se obtiene un mayor número de casos positivos a rabia, en contraste con los determinados mediante el uso de la técnica de Seller, o de inoculaciones para el aislamiento de virus (1,23,24). En el caso del uso de la técnica de Seller, se debe desde luego el menor número de hallazgos positivos, a que esa técnica está limitada para usarse exclusivamente con el cerebro de los ejemplares en estudio, mientras que la técnica de FA, se usa en muchos otros tejidos, además del cerebro (23); con ella se localiza "in situ", la presencia del virus de rabia, observándose corpúsculos que por sus dimensiones corresponden a los de los cuerpos de Negri, mientras

que otros son tan pequeños que se les conoce como "polvo antigénico" (2,8,12,13).

Por otra parte, dicha técnica de anticuerpos fluorescentes, FA, pone de manifiesto al virus de rabia, independientemente de que posea o no características neurotrópicas, evitándose así omitir aquellos casos positivos a rabia que no podrían diagnosticarse debidamente haciendo la inoculación en ratones, porque el virus no les produce encefalitis, aún cuando pudiera estar presente.

La presencia de virus de rabia en la glándula interscapular es muy interesante, toda vez que manifiesta el lipotropismo como una característica de este virus (22,24). El tejido de la glándula interescapular, siendo graso café, sirve como depósito y como sitio de multiplicación del virus. La demostración de las características lipotrópicas de ciertos virus de rabia, junto con la alta actividad metabólica de este tejido, sugieren un acercamiento hacia el estudio del "mecanismo de reservorio" en los mamíferos (22).

Por cuanto a la prueba de neutralización, ésta es de gran valor, especialmente desde el punto de vista epidemiológico, para la identificación de cepas desconocidas de virus de rabia, sobre todo, cuando se trata de un virus modificado por pasos seriados en animales de laboratorio, o bien, cuando se trata de virus de rabia de una procedencia inusitada; los murciélagos frugívoros e insectívoros, como procedencia de virus de rabia constituyen un hallazgo verdaderamente inusitado, que vino a dar un nuevo giro a los conocimientos de la epidemiología de la rabia: por otra parte, los aislamientos de virus de rabia hechos en murciélagos, han dado lugar a evidencias de que en ellos hay cepas de virus que difieren en cierta forma del virus de la calle o canino (4,5,6,7,9,11,15,18,22,23).

Con la prueba de neutralización, en cinco de seis sueros de vampiros, se obtuvieron resultados positivos a rabia, según se ve en la Tabla 1, de nuestro estudio aquí presentado. Cabe hacer notar que en uno de estos cinco casos, la

prueba de FA es negativa en los cuatro tejidos estudiados, Todavía mas importante es hacer notar, que en los otros cuatro ejemplares, la prueba de FA es positiva en uno o en mas tejidos de cada vampiro. Si la prueba de FA permite diagnósticos positivos a rabia poniendo de manifiesto la presencia del antígeno, la prueba de neutralización en cambio, pone de manifiesto la presencia de anticuerpos circulantes, específicos a rabia. El que ambas pruebas sean positivas a rabia en un mismo ejemplar, pone de manifiesto una vez mas, que el virus de la rabia, una vez que ha penetrado a la célula, resulta inaccesible a los anticuerpos.

[redacted]

Se ha estudiado un grupo de siete vampiros de la especie *Desmodus rotundus*, para determinar en ellos la presencia o ausencia de rabia, utilizando tres distintos métodos, a saber: la técnica de anticuerpos fluorescentes, FA; el aislamiento de virus por inoculación de ratones y la prueba de neutralización.

Los siete vampiros resultaron positivos a rabia, ya sea con la técnica de anticuerpos fluorescentes, con la prueba de neutralización o con ambas y solamente en un caso se logró el aislamiento de virus de rabia.

El uso de la técnica de anticuerpos fluorescentes permite obtener un mayor número de casos positivos a rabia, en contraste con el uso de la técnica de Sellar, o la técnica de inoculaciones para aislamiento del virus.

Con la técnica de anticuerpos fluorescentes se hacen diagnósticos positivos a rabia, poniendo de manifiesto la presencia del antígeno; la prueba de neutralización en cambio, pone de manifiesto la presencia de anticuerpos circulantes,

específicos a rabia. El que ambas pruebas sean positivas a rabia en un mismo suroidólogo, pone de manifiesto una vez mas, que el virus de la rabia, una vez que ha penetrado a la célula, resulta inaccesible a los anticuerpos circulantes.

BIBLIOGRAFIA

1.- Alvarez-Lomelí, E., Villa-R, B., and Wimsatt, W.A. Contribución al conocimiento de la epidemiología de la rabia en algunos murciélagos de la República Mexicana. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol., Méx., 22: 387-392, 1964.

2.- Atanasiu, P., López, P., Dragonas, P. Etude cinétique du virus rabique en culture de tissus a l'aide des anticorps fluorescents et des coupes ultra-fines, Ann. Inst. Pasteur 105(5): 813-824, 1963.

3.- Bell, J.F. Transmission of rabies to laboratory animals by bite of a naturally infected bat. Science 129(3361): 1490-1491, 1959.

4.- Bell, J.F., Moore, G.J., Raymond, G.E., Tibbs, C.E. Characteristics of rabies in bats in Montana. J. Publ. Health 52(2): 1293-1301, 1962.

5.- Brahram, A.P. A report of three cases of human paralytic rabies occurring in one family from British Guiana. W.I. Med. J. 10: 149-155, 1961.

6.- Burns, K.F. Farinacci, C.J. Rabies in nonsanguivorous bats of Texas. Science 120: 548, 1954.

7.- Burns, K.F., Shelton, D.P., Grogan, E.W. Bat rabies: Experimental host transmission studies. Ann. New York Acad. Sci. 70: 452-466, 1957.

8.- Cherry, W.B., Goldman, M., Carski, T.R., Hoody, E.R. Fluorescent antibody techniques in the diagnosis of communicable diseases. U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Health Service, Publ. 729, 1960.

9.- Constantine, D.G. Bats and rabies. A Startling mammal-virus relationship. Zoonoses. 24(11): 1961.

10.- Constantino, D.G. Rabies transmission by mosbite route. Publ. Health Rep. 77(4): 287-289, 1962.

11.- Enright, J.B. Geographical distribution of bat rabies in the United States, 1953-1960. Am. J. Publ. Health 52(3): 484-488, 1962.

12.- Fernandes, E.V., Wilkton, P.J., Koprowski, H. Mechanism of the cytopathic effect of rabies virus in tissue culture. Virology 21: 128-131, 1963.

13.- Fernandes, E.V. Wilkton, P.J., Koprowski, H. Endosymbiotic relationship between animal viruses and host cells. A study of rabies virus in tissue culture J. Exp. Med. 120(6): 1099-1116, 1964.

14.- Fox, J.P. Prophylaxis against rabies in humans. Ann. New York Acad. Sci. 70, Art. 3, 480-494, 1958.

15.- Irons, J.V., Eads, R.B., Grimes, J.E., Conklin, A. The Public Health importance of bats. Tex. Rep. Biol. Med. 15(2): 292-298, 1957.

16.- Johnson, H.N. Durrieague: vampire bat rabies in Mexico. Amer. J. Hyg. 47: 189-204, 1948.

17.- Johnson, H.N. The role of the spotted skunk in rabies. Proc. 63rd Annual Meeting, U.S. Livestock Sanit. Assn., pp. 267-274, 1959.

18.- Johnson, H.N. Rabies in: Rivers, T.M.- Viral and rickettsial infection of man. 3a. edición. Philadelphia. Lippincott. 1959, pp. 405-431.

19.- Organización Mundial de la Salud. Técnicas de Laboratorio aplicadas a la Rabia. Publicación Científica 23: 32-75, 1959.

20.- Organización Mundial de la Salud. Comité de expertos en rabia. Ser. Inf. Téc. 201: 5-25, 1960.

21.- Pinterio, L., Tenjo, P. Electron microscope observation on rabies virus by negative staining. Virology 18(1): 147-151, 1962.

22.- Sulkin, S.S. Bat rabies: Experimental demonstration of the "reservoiring mechanism". Am. J. Publ. Health 52(3): 484-488, 1962.

23.- Villa, R.B., Alvarez, L.B. Rabies virus in the kidney and other tissues of vampire bats in Western Mexico. Zoon. Rev. 2(2): 77-82, 1963.

24.- Villa, R.B., Alvarez, L.B., Rodríguez, C. Presencia y permanencia del virus de la rabia en la glándula interescapular de algunos quiróptegos mexicanos. Ciencia 22(5): 137-140, 1963.