



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia

AISLAMIENTO DE VIRUS RABICO A PARTIR DE
ENCEFALO DE EQUINOS CLINICAMENTE SANOS
MEDIANTE "PASES CIEGOS" EN RATON.

Tesis Profesional

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

p r e s e n t a

ELIZABETH DEL CASTILLO CALVA



Asesores: MVZ Aurora Velázquez E.
MVZ Gregorio Hernández Z.

México, D. F.

1986



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 esta 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.

**AISLAMIENTO DE VIRUS RABICO A PARTIR DE
ENCEFALO DE EQUINOS CLINICAMENTE SANOS
MEDIANTE "PASES CIEGOS" EN RATON**

**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P O R
ELIZABETH DEL CASTILLO CALVA**

**Asesores: MVZ Aurora Velázquez E.
MVZ Gregorio Hernández Z.**

México, D. F.

1986

A mis padres
Adolfo del Castillo M. y Aydeé C.
de del Castillo con eterna grati-
tud por todo el esfuerzo que rea-
lizaron para mi formación.

A mis hermanos
Doris, Adolfo, Iris y Alfonso
para que sigan adelante.

A J. Alberto
Por su amor.

**El más sincero agradecimiento a los
MVZ Aurora Velázquez E. y Gregorio
Hernández Z. por su valiosa ayuda
en la elaboración de este trabajo.**

A mi Honorable Jurado:
MVZ Héctor Quiróz Romero
MVZ René Rosiles Martínez
MVZ Fernando Olguín Romero
MVZ Armando Mateos Poumian
MVZ Jaime Navarro Hernández

**A la Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia.**

**A todas las personas que laboran
en el Depto. de Virología e Inmunología
de la FMVZ, Gracias.**

A mis amigos.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	8
DISCUSION	10
LITERATURA CITADA	14
CUADEROS	21

R E S U M E N

CASTILLO CALVA ELIZABETH DEL. Aislamiento de Virus Rábico a -
Partir de Encéfalo de Equinos Clínicamente Sanos Mediante "Pa-
ses Ciegos" en Ratón. Bajo la dirección de: MVZ Aurora Veláz-
quez Echegaray y MVZ Gregorio Hernández Zaragoza.

Se analizaron los cerebros de 100 caballos muestrea-
dos al azar, sacrificados en el Rastro de Equinos de Ixtapala-
pa en el Distrito Federal, para identificar y aislar virus rá-
bico a través de pases seriados en ratón lactante.

Todos los encéfalos resultaron negativos a la prueba
de Anticuerpos Fluorescentes (AF). En 99 de las muestras ino-
culadas en ratones lactantes no se identificaron animales con
signos clínicos de enfermedad durante el período de observa-
ción en cada uno de los nueve pases seriados realizados, resul-
tando también negativos a la prueba de AF.

De la muestra No. 43 desde el primer pase se encon-
traron ratones con signología nerviosa y negativos en AF, sien-
do hasta el octavo pase en que todos los ratones murieron y re-
sultaron positivos a la prueba de AF.

Se confirmó la identidad del virus aislado con la --
prueba de Índice de Neutralización en la que se obtuvo una di-
ferencia de 2.3 logaritmos entre el suero normal y el suero an-
tirrábico, el título del virus fué de $10^{5.5}$ DLRL50%/ml.

I N T R O D U C C I O N

La Rabia es una de las enfermedades zoonóticas considerada en todo el mundo como de las más aterradoras, causada - por un virus de la Familia Rhabdoviridae, Género Lyssavirus, - que afecta a todos los animales de sangre caliente sin hacer - distinción de edad, sexo ó época del año (18, 35, 36, 37, 38, 45, 51, 55, 68). Se transmite principalmente por el contacto con la saliva de los animales infectados, penetrando a través de las heridas ó por pequeñas escoriaciones en la piel y/o mucosas (24, 25, 37, 38, 45, 55, 66, 67).

El virus viaja en forma ascendente a través de ner--vios periféricos hasta el sistema nervioso central, donde produce una encefalitis no supurativa que conduce a la muerte -- (35, 36, 37, 43, 45, 55, 67). Sin embargo, se han venido realizando estudios acerca de un tipo de infección rábica en la - que el huesped permanece infectado sin manifestar ningún signo de enfermedad y a la cual se le ha denominado rabia persistente, inaparente o subletal. Este tipo de infección se ha obser--vado principalmente en varios mamíferos silvestres infectados en forma natural, tales como los murciélagos, zorros, zorri- - llos, mapaches, coyotes, lobos y algunos perros salvajes capaces de eliminar el virus en la saliva por un tiempo prolonga--do, permaneciendo como portadores del virus (3, 5, 6, 9, 11, - 19, 20, 23, 24, 25, 27, 33, 34, 37, 38, 45, 47, 48, 51, 52, -- 53, 58, 60, 62).

Experimentalmente, también se ha descrito la existencia de algunas cepas de virus rábico aisladas de murciélago, zorro, perro, asno, humano, roedores silvestres y mutantes de virus fijo (CVS) con baja virulencia para los animales de laboratorio (5, 7, 8, 16, 17, 29, 30, 43, 47, 58, 61, 63).

En México, se aisló en 1971 a partir de encéfalo de equinos, un virus rábico letal para ratones y aves de un día de edad cuya virulencia se incrementó en el primer pase intracerebral en ratón de un día, sin embargo, no mató ratones de 21 días, de los cuales fué posible aislar el virus a diferentes intervalos de tiempo (1).

Diez años después de realizado el estudio anterior se diagnosticó rabia en un caballo por el método de Anticuerpos Fluorescentes, se inocularon ratones, cuyes, conejos y -- hamsters de un día de edad, además de pollos de 1 y 6 días -- por vía intracerebral, muriendo únicamente hamsters y ratones. Al hacer pases en las mismas especies pero mayores de 21 días de edad, los animales manifestaron signos nerviosos -- en forma transitoria cada 25 ó 30 días, aislándose siempre el virus (31).

En forma general se considera que son varios los -- factores que influyen en la presentación de las infecciones -- virales persistentes, entre ellos se encuentran los siguientes:

1. vía de entrada del virus al huésped (8, 27, 30, 47).

- ii. dosis de virus infectante (29, 30, 37, 63).
- iii. formación de partículas virales incompletas llamadas partículas defectivas de interferencia, que son incapaces de replicarse e interfieren con la producción de un virus completo infectante (2, 3, 9, 13, 28, 37, 40, 45, 55, 59).
- iv. mutantes sensibles a la temperatura (12, 14, 15, 54, 59).
- v. presencia de provirus, que no afectan el metabolismo y la división celular (45, 55, 59).
- vi. estado estacionario fluente (20, 37, 45).
- vii. la heterogenicidad de las células del huésped con respecto a la susceptibilidad de infección o la capacidad de sintetizar antígeno viral (43, 57, 58, 67).
- viii. que el virus no sea citopatogénico, replicándose simultáneamente células y viriones (10, 12, 14, 15, 45, 59).
- ix. incapacidad intrínseca del virus para replicarse en las células debido al medio ambiente adverso (pH ácido, temperatura, O_2) (45, 59, 63).
- x. la síntesis de interferón por parte de las células infectadas, inhibiendo así la réplica viral (37, 49, 50, 55, 59, 64).
- xi. cambios en la constitución bioquímica de la glicoproteína viral (10, 17, 21, 22, 56, 57, 65).
- xii. interferencia de las funciones neuronales específicas a nivel de receptores muscarínicos de la acetil colina (67).

Sin embargo, las infecciones inaparentes no son un proceso estable, ya que pueden ser reactivadas por varios factores tanto naturales como artificiales que actúan como mecanismos desencadenantes, como es el caso de murciélagos en los

que la infección rábica latente puede ser reactivada por fluctuaciones en la temperatura ambiental y durante el período de gestación (9, 44, 60), así mismo, en cobayos sometidos a estados de stress como la sobrepoblación y la administración de agentes inmunosupresores (35, 45, 46).

La inoculación en diferentes huéspedes y realizando "pases ciegos" en los mismos, puede hacer evidente este tipo de infección (2, 32, 58).

In vitro, células BHK21-S13 con infección persistente de virus rábico en la que el virus ha sufrido cambios biológicos y químicos, puede ser reactivada obteniéndose un virus completo al infectar éstas células con virus de Carré --- (10).

HIPOTESIS:

Algunos caballos pueden estar infectados y actuar como portadores sanos del virus rábico, pudiendo éste ser reactivado por pases seriados en animales susceptibles.

OBJETIVO:

El propósito del presente trabajo fué el aislamiento de virus rábico de encéfalos de equinos clínicamente sanos, muestreados al azar y negativos a la prueba de Anticuerpos Fluorescentes, mediante la realización de "pases ciegos" en ratones de un día de edad.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

OBTENCION DE MUESTRAS:

Se tomaron al azar los encéfalos de 100 caballos sa
crificados en el Rastro de Equinos de Ixtapalapa en el Distrito
Federal, los cuales se llevaron de inmediato al laborato--
rio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootec
nia, donde se conservaron a -70°C hasta el momento de uti--
lizarse.

PRUEBA DE ANTICUERPOS FLUORESCENTES:

Se realizó la prueba directa de Anticuerpos Fluoresce
ntes a cada una de las muestras, siguiendo la técnica des--
crita por Larghi (44).

PREPARACION DE INOCULOS:

De cada encéfalo se preparó una suspensión al 10% -
en solución amortiguadora de fosfatos (PBS), suplementada con
suero fetal equino al 2%, más antibióticos (200 UI de penici--
lina y 0.2 mg de estreptomina por ml de inóculo). Estos --
inóculos se mantuvieron a -70°C hasta su uso.

REACTIVACION POR "PASES CIEGOS" EN RATON:

Se inocularon 0.02 ml de cada suspensión al 10% por
vía intracerebral a camadas de ratones albinos suizos de un -
día de edad, clínicamente sanos, siguiendo el método descrito
por Kaplan y Koprowski (39). Los animales se observaron dia--
riamente durante un período de 30 días, tomando de cada cama-

da de los cerebros de los ratones para preparar inóculos y realizar 9 "pases ciegos" en ratones lactantes.

IDENTIFICACION Y TITULACION DEL VIRUS:

Se realizaron de acuerdo a las técnicas descritas -
por Kaplan y Koprowski (39).

R E S U L T A D O S

Las improntas de las 100 muestras de cerebro de equi no resultaron negativas a la prueba de Anticuerpos Fluorescentes (AF).

De los 100 inóculos inyectados intracerebralmente a camadas de ratones lactantes, en 99 de ellos se realizaron 9 - pases seriados sin encontrar ningún cambio en los ratones durante el período de observación en cada pase, siendo también - negativos a la prueba de AF (Cuadros No. 1 y 2).

En la muestra No. 43 se observó al primer pase ratones con incoordinación, hiperacusia, lordosis ó xifosis, pelo hirsuto y finalmente la muerte al día 19 postinoculación, los cuales resultaron negativos en la prueba de AF; conforme se -- realizaron los pases seriados aumentó el número de ratones --- muertos pero negativos a la prueba de AF, siendo hasta el octavo pase en que todos los ratones murieron en un período de 12 días y resultaron positivos a la prueba de AF (Cuadro No. 3).

Al inocularse intracerebralmente ratones de 21 días de edad con el virus aislado de la muestra No. 43, los animales no murieron, siendo además positivos a la prueba de AF.

En la prueba de Índice de Neutralización para identificar el virus de la muestra No. 43, se obtuvo una diferencia de 2.3 logaritmos entre el suero normal y el suero antirrábico (Cuadro No. 4).

Se obtuvo un título de $10^{5.5}$ DLRL50%/ml del virus --
aislado de la muestra No. 43.

D I S C U S I O N

En el presente trabajo la reactivación del virus rábico de origen equino a través de pases intracerebrales en ratón lactante ocurrió a la octava transferencia. El 1% de los encéfalos de equino determinados por la prueba de AF e inoculación en ratón fueron positivos al antígeno rábico. Estos resultados son similares con los obtenidos por Schoop (55) quien trabajando con ratones silvestres africanos aisló el virus rábico en el 1% de los animales probados al noveno pase. A diferencia de los datos encontrados por Hernández et. al. (32) -- quienes necesitaron de 2 a 3 pases seriados para aislar el virus rábico en el 3% de los caballos clínicamente sanos estudiados.

De acuerdo a algunos autores, el virus rábico produce antígeno identificable por las técnicas de diagnóstico rutinario después de diez ó más días postinfección dependiendo del tipo de huésped y cepa viral utilizada (4, 26, 41). En este experimento se obtuvo un aislamiento viral después de 8 "pases ciegos". Algunos ratones manifestaron una signología sugestiva de la enfermedad desde el primer pase, y se incrementó la cantidad de animales afectados a través de los pases hasta el octavo. En éste último todos los ratones murieron en un período de 12 días, siendo positivos a la prueba de AF.

El comportamiento de éste virus no puede ser tan fácilmente explicado debido a los diferentes factores involucra-

dos en la presentación de infecciones persistentes o inaparentes, además de que tal vez el virus aislado estuvo formado por dos tipos de partículas virales mezcladas, aquellas que fueron patógenas para ratones lactantes y no patógenas para animales adultos, y aquellas que fueron patógenas para otras especies - (42).

Varios autores (1, 31, 32, 42, 52, 59) mencionan la existencia de virus rábico de virulencia modificada natural o experimentalmente, con capacidad de producir infecciones persistentes o tolerantes en animales de laboratorio especialmente aquellos aislados de equinos. Además, señalan que uno de los cambios en las células infectadas es la desaparición del antígeno viral (período de eclipse) y la subsecuente aparición de un nuevo virus detectable por la prueba de AF y aislamiento viral, pero esto no necesariamente sucede inmediatamente, sobre todo cuando se trata de virus de replicación lenta (59).

El virus patógeno para el ratón lactante obtenido -- después de fijar su capacidad letal para la misma especie a -- través de 8 pases, revirtió prontamente a la forma no patógena para el ratón adulto, después de uno o dos pases intracerebrales.

Información similar describieron Aguilar (1) y Hernández et. al. (32) al trabajar con virus aislados de equino, el cuál no mataba ratones de 21 días sino exclusivamente ratones, hamsters y aves de un día de edad; además de incrementar

su virulencia en el primer pase en ratón de un día. Asimismo estos investigadores aislaron virus de algunos animales de 21 días que no murieron hasta 90 días postinoculación.

Murphy (52) menciona que la diseminación del virus de célula a célula por un virus fijo o de calle al infectar - ratones lactantes y adultos, indica que aún en infecciones rábicas naturales, una vez que el virus alcanzó el sistema nervioso central éste puede diseminarse de una célula a otra sin producir cambios en el huésped.

En relación a la prueba de Índice de Neutralización se observó una diferencia de 2.3 logaritmos entre el suero -- normal y el inmune, con lo que se estableció la identidad del virus, pues Kaplan y Koprowski (39) señalan que al obtenerse una diferencia mayor de 2 logaritmos (neutralización del suero antirrábico en más de 100 veces la DL50% del virus) se confirma la identidad de un virus rábico.

Con base en lo anterior y para diferenciar este tipo de infección, Larski (45) y Sashi (55) definen como infección persistente aquella en la cuál el virus se encuentra en las células por largos períodos sin producir efecto citopático y las partículas virales pueden ser liberadas continuamente, diferenciando a ésta infección de la llamada "abortiva" - en la cuál la síntesis viral de progenie infecciosa no ocurre y por lo tanto no es posible el aislamiento viral.

Es importante desde el punto de vista epidemiológico considerar el término persistencia o cronicidad del virus rábico, así como sus interacciones con los diferentes huéspedes mamíferos, debido a que en la historia natural de la rabia las especies que sirven como reservorios (murciélagos, zorrillos, coyotes, zorras, etc.) para la perpetuación del virus, el papel de casos crónicos o persistentes es claro (9, 20, 33, 34, 37, 48, 60, 62).

Después de presentaciones epizooticas, el virus es -capáz de sobrevivir a través de un período de incubación excepcionalmente largo hasta que una nueva generación de huéspedes susceptibles alcanza una densidad necesaria para una nueva ronda de transmisión (9, 20, 33, 34, 37, 48, 60, 62).

Para aquellas especies, tales como animales domésticos y humanos, los casos crónicos probablemente representen un ciclo alterno de vida para el virus (9, 23, 52).

En éste trabajo la aplicación de los resultados obtenidos de ratones en forma experimental a infecciones naturales, tal vez sea limitada. Sin embargo, el aislamiento viral del encéfalo de uno de los equinos probados, así como los casos informados anteriormente (1, 31, 32) confirma la presencia de -- una infección, tal vez crónica, persistente o tolerante para ésta especie. Y que en éste caso el curso crónico o persistente de la infección, posiblemente pudiera imitar la reintroducción del virus a través de un nicho no usual a otras especies susceptibles.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Aguilar, de S.J.: Caracterización de una cepa de virus rábico aislada de tejido nervioso de equino, Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional - Autónoma de México. México, D.F., 1973.
- 2.- Anszhaparidze, O.G., Bogomolova, N.N., Borishin, Y.Y., -- Bektemirova, M.S. and Drynov, I.D.: Comparative study of rabies virus persistence in human and hamster cell lines. J. Virol., 37: 1-6 (1981).
- 3.- Arko, R.J., Schneider, L.G. and Baer, G.M.: Non fatal canine rabies. Am.J. Vet. Res., 34: 937-938 (1973).
- 4.- Atanasiu, P. and Lepine, P.: Multiplication du virus rabique des rues sur la tumeur ependymaire de la souris en culture de tissus. Effet cytolytique. Ann. Virol. (Inst. Pasteur), 96: 72-78 (1959).
- 5.- Badiali, L. and Abou-Yousef, M.: Contribution to the problem of abortive or subletal rabies. Vet. Ital., 19: 807-835 (1968).
- 6.- Baer, G.M.: Recovery of pig from rabies. J. Am. Vet. Med. Assoc., 160: 1127-1128 (1972).
- 7.- Baer, G.M. and Cleary, W.F.: Characteristics of 11 rabies virus isolates in mice: Titres and relative invariances - of virus incubation period of infection and survival of - mice with sequelae. J. Infect. Dis., 3: 336-345 (1977).
- 8.- Bell, J.F.: Abortive rabies infection. I. Experimental - production in white mice and general discussion. J. - - Infect. Dis., 114: 249-257 (1964).
- 9.- Bell, J.F.: Latency and abortive rabies. In: The natural history of rabies. Edited by Baer, M.G., Vol. I: 331-354, Academic Press, New York, 1975.
- 10.- Bijlenga, G., Joubert, L. et L'ery, L.: Infection cellulaire persistante par un virus rabique incomplet sans ex-

- cretion virale: Excrétion d'un virus rabique complet --
 après réactivation par le virus de Carré. Ann. Virol. --
 (Inst. Pasteur), 135: 201-212 (1984).
- 11.- Botros, B.A.M., Lewis, J.C. and Kerkor, M.: A study to --
 evaluate non fatal rabies in animals. US Nav. Med. Res. -
U., 3: 137-141 (1979).
- 12.- Bussereau, F., Benejean and Saghi, N.: Isolation and --
 study of temperature-sensitive mutants of rabies virus. -
J. Gen. Virol., 60: 153-158 (1982).
- 13.- Clark, H.F., Parks, N.F. and Wunner, W.H.: Defective in- --
 terfering particles of fixed rabies virus: lack of corre--
 lation with attenuation or auto-interference in mice. J. -
Gen. Virol., 52: 245-258 (1981).
- 14.- Clark, H.F. and Koprowsky, H.: Isolation of temperature- -
 sensitive conditional lethal mutants of "fixed" rabies vi-
 rus. J. Virol., 7: 295-300 (1971).
- 15.- Clark, H.F. and Wiktor, T.J.: Temperature-sensitive charac-
 teristics distinguishing substrain of fixed rabies virus:
 lack of correlation with plaque-size markers or virulence
 for mice. J. Infect. Dis., 125: 637-646 (1972).
- 16.- Coulon, P., Rollin, P., Aubert, M. and Flamand: Molecular
 basis of rabies virus virulence. I: selection of avirulent
 mutants of the CVS strain with anti-G. Monoclonal anti- -
 bodies. J. Gen. Virol., 61: 97-100 (1982).
- 17.- Coulon, P., Rollin, P., Blancou, J. and Flamand, A.: Avi-
 rulent mutants of the CVS strain of rabies virus. Comp. -
Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5: 117-122 (1982).
- 18.- Cox, H.J.: The structural proteins of rabies virus. Comp.
Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5: 21-25 (1982).
- 19.- Díaz, A.M.O., Fuenzalida, E. and Bell, J.F.: Non fatal ra-
 bies in dogs and cats. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), -
126: 503-509 (1975).
- 20.- Díaz, A.M.O. and Varela-Díaz, V.M.: Persistence and vari--

ation of mangosta street rabies virus antigens during adaptation into mice. Pan Am. Hlth. Org./WHO, Buenos Aires, Arg., 171: 73-78 (1980).

- 21.- Dietzchold, B., Cox, J.H. and Schneider, L.G.: Rabies virus strains: a comparison study by polypeptide analysis - of vaccine strains with different pathogenic patterns. -- Virol., 98: 63-75 (1979).
- 22.- Dietzchold, B., Wunner, H.W., Wiktor, J.T. Lopes, D.A., - Lafon, M., Smith, L.C. and Koprowski, H.: Characteriza- - tion of an antigenic determinant of the glycoprotein that correlates with pathogenicity of rabies virus. Proc. -- Natl. Acad. Sci., 80: 70-74 (1983).
- 23.- Fekadu, M. and Baer, G.M.: Recovery from clinical rabies of 2 dogs inoculated with a rabies virus strain from -- Ethiopia. Am. J. Vet. Res., 41: 1632-1634 (1980).
- 24.- Fekadu, M., Shaddock, J.H. and Baer, G.M.: Intermittent - excretion of rabies virus in the saliva of a dog two and six months after it had recovered from experimental ra- - bies. Am. J. Trop. Med. Hyg., 30: 1113-1115 (1981).
- 25.- Fekadu, M., Shaddock, J.H. and Baer, G.M.: Excretion of ra- bies virus in the saliva of dogs. J. Infect. Dis., 145: - 715-719 (1982).
- 26.- Fernandes, M.V., Wiktor, T.J. and Koprowski, H.: Mechan- - ism of the cytopathic effect of rabies virus in tissue - culture. Virol., 21: 128-131 (1963).
- 27.- Fischman, R.H. and Strandberg, D.J.: Inapparent rabies vi- rus infection of the central nervous system. J. Am. Vet. Med. Assoc., 163: 1050-1055 (1973).
- 28.- Grabau, E.A. and Holland, J.J.: Analysis of viral and -- defective-interfering nucleocapsids in acute and persist- ent infection by Rhabdovirus. J. Gen. Virol., 60: 87-97 - (1982).
- 29.- Gribencha, S.V.: Abortive rabies in rabbits and white -- rats infected intracerebrally. Archiv. Virol., 49: 317-

322 (1975).

- 30.- Gribencha, S.V. and Selimov: Non fatal rabies in white mice. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 125: 227-233 (1974).
- 31.- Hernández, Z.G.: Características de una cepa de virus rábico aislada de un brote de rabia equina en el hipódromo de las Américas en 1981, Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1983.
- 32.- Hernández, Z.G., Velázquez, E.A. e Iturbe, R.R.: Aislamiento de virus rábico a partir de encéfalo de equinos clínicamente sanos. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaría en México 1986, Fac. de Med. Vet. y Zoot., 86. S.A.R.H., U.N.A.M., México, D.F. (1985).
- 33.- Howard, D.R.: Rabies virus tropism in naturally infected skunks (Mephitis mephitis). Am. J. Vet. Res., 12: 2187-2190 (1980).
- 34.- Howard, D.R.: Transplacental transmission of rabies virus from a naturally infected skunk. Am. J. Vet. Res., 42: -- 691-692 (1981).
- 35.- Johnson, H.N.: Rabies virus. In: Viral and Rickettsial -- Infection of Man. Edited by Horsfall, F.L. and Tamm, I. Pitman Medical, London and Philadelphia, 1965.
- 36.- Johnson, T.R.: The pathogenesis of experimental rabies. - In: Rabies. Edited by Nagano, Y. and Davenport, M.F. UTP, Japan, 1971.
- 37.- Kaplan, C.: Que hay de cierto sobre la rabia. Edamex, México, D.F., 1981.
- 38.- Kaplan, M.N.: Epidemiology of rabies. Nature, 221: 421-425 (1969).
- 39.- Kaplan, M.N. y Koprowski, H.: La Rabia. Técnicas de Laboratorio. 3a. ed. OMS, Ginebra, Suiza, 1976.
- 40.- Kawai, A. and Matsumoto, S.: Interfering and noninterfer-

- ing defective particles generated by rabies small plaque variant virus. Virol., 76: 60-71 (1977).
- 41.- Kissling, R.E. and Reese, D.R.: Anti-rabies vaccine of - tissue culture origin. J. Immunol., 91: 362-368 (1963).
- 42.- Koprowsky, H., Black, J. and Nelsen, D.J.: Studies on -- chick-embryo-adapted-rabies virus, VI. Further changes in pathogenic properties following prolonged cultivation in the developing chick embryo. J. Immunol., 72: 94-106 - - (1953).
- 43.- Kucera, P., Dolivo, M., Coulon, P. and Flamand, A.: Pathway of the early propagation of virulent and avirulent rabies strains from the eye to the brain. J. Virol., 55: 158-162 (1985).
- 44.- Larghi, O.P.: Prueba de anticuerpos fluorescentes para rabia. Centro Panamericano de Zoonosis. Nota técnica No. 8 de la OSP, 2: 5-24 (1975).
- 45.- Larski, Z.: Veterinary virology. Published for The U.S. - Department of Agriculture and the National Science Foundation, Washington, D.C. by the Foreign Scientific Publications Department of the National Center for Scientific, - Technical and Economic Information, Warsaw, Poland, - - 1980.
- 46.- Loave, O.A.: Reactivation of rabies virus in a guinea pig due to the stress of crowding. Am. J. Vet. Res., 25: 268-269 (1964).
- 47.- Lodmell, L.D., Bell, J.F., Moore, G.J. and Raymond, H.G.: Comparative study of abortive and nonabortive rabies in - mice. J. Infect. Dis., 119: 569-580 (1969).
- 48.- Malaga-Alba, A.: Rabies wildlife in middle America. J. -- Am. Vet. Med. Assoc., 130: 386-390 (1957).
- 49.- Marcovitz, R., Hovanessian, A.G. and Tsiang, H.: Dis- -- tribution of rabies virus, interferon and interferon-me-- diated enzymes in the brains of virus-infected rats. J. - Gen. Virol., 65: 995-997 (1984).

- 50.- Marcovistz, R., Tsiang, H. and Hovanessian, A.G.: Production and action of interferon in mice infected with rabies virus. Ann. Virol. (Inst. Pasteur), 135: 19-33 --- (1984).
- 51.- Murphy, A.F.: Morphology and morphogenesis. In: The natural history of rabies. Edited by Baer, M.G., Vol. I: 33-61, Academic Press, New York, 1975.
- 52.- Murphy, A.F., Bell, F., Baer, S.P., Gardener, J.J., ---- Moore, J.G., Harrison, A.K. and Coe, E.J.: Experimental - chronic rabies in the cat. Lab. Invest., 43: 231-241 --- (1980).
- 53.- Parker, R.L. and Sikes, R.K.: Development of rabies inhibiting substance in skunk infected with rabies virus. - Public Health Reports, 81: 941-944 (1966).
- 54.- Saghi, N. and Flamand: Biochemical characterization of -- temperature-sensitive rabies virus mutants. J. Virol., -- 31: 220-230 (1979).
- 55.- Sashi, B.M. and Sukanta, K.D.: Veterinary virology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1981.
- 56.- Seif, I., Pepin, M., Blancou, J., Coulon, P. and Flamand, A.: Change in pathogenicity and amino acid substitution - in glycoprotein of several spontaneous and induced ---- mutants of the CVS strain. In: Nonsegmented negative ---- strains viruses. Edited by Bishop, D.H.L. and Compans, R. W., 295-300, North-Holland Publishing Co., New York, --- 1984.
- 57.- Seif, I. Rollin, P., Coulon, P. and Flamand, A.: Rabies - virulence: effect on pathogenicity and sequence charac--- terization of rabies virus mutations affecting the anti- genic site III of the glycoprotein. J. Virol., 53: 926-934 (1984).
- 58.- Schoop, U.: An african mouse capable of sustaining per--- sistent asymptomatic rabies infection. Ann. Microbiol., - 128: 289-296 (1977).

- 59.- Skellick, M.J. and Marcus, P.I.: Persistent infection by Rhabdoviruses. In: Rhabdoviruses. Edited by Bishop, D.H.-L., 67-97, CRC Press, Florida, 1980.
- 60.- Sims, A.A., Allen, R. and Sulkin, S.E.: Studies on the -- pathogenesis of rabies in insectivorous bats. III Influen--ence of the gravid state. J. Infect. Dis., 112: 17-27 (1963).
- 61.- Smith, J.S.: Mouse model for abortive rabies infection of the nervous system. Infect. Immun., 31: 297-308 (1981).
- 62.- Smith, J.S., Summer, J.W., Roumillant, L.F., Baer, G.M. - and Winkler, W.C.: Antigenic characteristics of isolates associates with a new epizootic of racoon rabies in the United States. J. Infect. Dis., 149: 769-774 (1984).
- 63.- Soulebot, P.J., Brun, A., Chappuis, G., Guillemin, F. and Tixier: Rabies virus pathogenicity and challenge. Influen--ence of the species comparison of the characteristics of the modified, fixed and wild strains. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5: 71-78 (1982).
- 64.- Sulkin, S.E. and Rae, A.: Interferon and rabies virus infection. In: The natural history of rabies. Edited by -- Baer, M.G. Vol. I: 356-368, Academic Press, New York, --- 1975.
- 65.- Sureau, P., Rollin, P. and Wiktor, T.J.: Epidemiologic -- analysis of antigenic variations of street rabies virus: detection by monoclonal antibodies. Am. J. Epidemiol., 117: 605-609 (1983).
- 66.- Szyfres, L., Arrossi, C.J. and Marchevsky: Rabia urbana: el problema de las lesiones por mordedura de perro. Bol. Sanit. Panam., 62: 615-620 (1982).
- 67.- Tsiang, H.: An "in vitro" study of rabies pathogenesis. - Bulletin del'Institut Pasteur, 83: 41-56 (1985).
- 68.- Wiktor, J.T., György, E., Schlumberger, D.H., Sokol, F. - and Koprowski, H.: Antigenic properties of rabies virus - components. J. Immun., 110: 269-276 (1973).

C U A D R O N o . 1

**Identificación del Antígeno Rábico por la prueba de Anti-
cuerpos Fluorescentes (AF) en los encéfalos de caballo y
resultados obtenidos en el primer pase en ratón lactante.**

No. de muestra	AF en la	Primer pase intracerebral en ratón		
	muestra original	No. de enfermos/ inoculados	Días de observación post-inoculación	AF
1 - 42	(-)	0/10	30	(-)
43	(-)	2/10	19	(-)
44 - 100	(-)	0/10	30	(-)

C U A D R O N o . 2

Indices de mortalidad y sobrevivencia obtenidos en los "pases ciegos" en ratones lactantes, realizados a partir de los inóculos de cerebros de equino.

22

No. de muestra	No. de Pase								
	1o.	2o.	3o.	4o.	5o.	6o.	7o.	8o.	9o.
	No. de muertos / inoculados								
1 - 42	0/10	0/10	0/8	0/8	0/10	0/10	0/10	0/8	0/10
43	2/10	3/10	4/8	5/10	6/10	7/9	7/8	10/10	-
44 - 100	0/9	0/10	0/8	0/10	0/10	0/9	0/8	0/10	0/10

C U A D R O No. 3

Indice y aparición de mortalidad en 8 "pases ciegos" en ratones lactantes inoculados con tejido - cerebral equino a partir de la muestra No. 43.

No. de Pase	No. de muertos/ inoculados	Prueba de AF	Días post-inoculación en que aparecieron signos nerviosos y muerte
1o.	2/10	(-)	19
2o.	3/10	(-)	19
3o.	4/8	(-)	21
4o.	5/10	(-)	20
5o.	6/10	(-)	15
6o.	7/9	(-)	19
7o.	7/8	(-)	14
8o.	10/10	(+)	12

C U A D R O No. 4

Identificación quantal del virus rábico aislado de una muestra (No. 43) de cerebro de equino clínicamente sano, por el método de Índice de Neutralización*.

El logaritmo del 50% de mortalidad en las diluciones con suero normal fué de $10^{4.8}$

El logaritmo del 50% de mortalidad en las diluciones con suero antirrábico fué de $10^{2.5}$

La diferencia de 2.3 logaritmos entre los sueros, confirma que se trata de un virus rábico

*De acuerdo al método descrito por Kaplan y Koprowski (39)