

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

*"Aislamiento del Virus de la Rabia
de pulmón, riñón y vejiga de perros
naturalmente infectados"*

T E S I S

QUE PRESENTA

José de Jesús Morales Torres

PARA SUSTENTAR SU EXAMEN PROFESIONAL

Y OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

*El presente trabajo se realizó en el Laboratorio
de Virología de la Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia*

*Bajo el asesoramiento técnico de la Dra.
Aurora Velázquez Echegaray*

*a la cual le doy mi más sincero agradecimiento por la
ayuda prestada, para la realización del presente trabajo*

A mis Padres y Abuelita

A mi Esposa e Hijos

A mis Hermanos

A mis Maestros

A mi Facultad

I.— INTRODUCCION

II.— MATERIAL Y METODOS

III — RESULTADOS

IV.— DISCUSION

V.— CONCLUSIONES

VI.— BIBLIOGRAFIA

I.—INTRODUCCION.

El virus rábico, ha sido objeto de numerosos estudios, llevados a cabo por diversos investigadores desde que Pasteur lo aisló y lo identificó como el agente causal de la rabia.

El concepto clásico de la patogenia de la rabia deriva principalmente de los estudios de la enfermedad en la forma como se desarrolla en los perros. El virus se introduce al organismo por medio de una solución de continuidad provocada por la mordedura de un animal rabioso; presentado el virus selectividad por el tejido nervioso. Ultimamente se ha demostrado, que el virus rábico también puede localizarse en otros tejidos, (1) (10) (33). Así como también, en condiciones experimentales se ha conseguido transmitir la enfermedad por medio de aerosoles, (2) (5), por ingestión de alimentos contaminados (24) (32) y se ha podido observar que la transmisión puede llevarse a cabo por vía transplacentaria (6) (23).

Gajdusek y Sabin (1955), consiguieron aislar el virus rábico de riñones de un niño.

Sulkin y col. (1957), experimentalmente demostraron el lípotropismo del virus rábico en la glándula interescapular de murciélagos de la especie *tadarida b. mexicana*. (33)

Johnson (1961), logró aislar el virus rábico de tejido pulmonar y muscular de murciélagos de la especie *Tadarida b. mexicana*, infectados naturalmente. (10)

Girard y col. (1965), demostraron la presencia del virus rábico en la orina, cerebro, glándula submaxilar, supra-renal, riñones e hígado, por el método de inmunofluorescencia en murciélagos *Eptesicus fuscus*. (8)

Villa y Álvarez (1963), aislaron el virus rábico de hígado y otros tejidos de murciélagos en el Oeste de México. (39)

Johnson (1959), aisló el virus rábico de la glándula mamaria y riñones de una zorra manchada, infectada naturalmente. (10)

Da Silva (1965, 66, 67 y 68), aisló el virus rábico de pulmón, riñones, cerebro, glándula submaxilar, parótidas, útero, fetos y testículos. Estos hallazgos los realizó en gatos, bovinos, perros, animales silvestres y murciélagos hematófagos de la especie *Desmodus rotundus*, habiendo utilizado casos tanto naturalmente infectados, como inoculados artificialmente. (28) (29) (30) (31)

Es de gran importancia el aislamiento del virus rábico de tejidos no nerviosos, pues estas investigaciones demuestran en una forma más amplia la epizootiología de la rabia así como la patogenia del virus, que sabemos ahora, se distribuye en diversos tejidos independientes del sistema nervioso central. Además de ser de gran importancia pues es una zoonosis, representando también un peligro mortal para la población animal tanto doméstica como silvestre.

En base a estos hallazgos se puede admitir la posibilidad de la existencia de otras formas de propagación y perpetuación de la rabia en la naturaleza.

El presente trabajo tiene por objeto aislar el virus rábico, de diversos tejidos tomados de perros rabiosos infectados naturalmente, con el propósito de corroborar los estudios ya realizados por otros investigadores.

II.—MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL BIOLÓGICO:

PERROS.—Para realización del presente trabajo, se procedió a tomar muestras de diversos tejidos como son: cerebro, esófago, vejiga, pulmón, riñón e hígado de perros que se diagnosticaron positivos de rabia, en el Centro Antirrábico de la Ciudad de México.

RATONES.—Para las pruebas biológicas se utilizaron ratones blancos suizos de 5 a 21 días de edad (295 ratones).

Las muestras recolectadas de los perros se depositaron en frascos estériles y se transportaron en refrigeración al laboratorio en donde se conservaron temporalmente a una temperatura de 20° C.

Después se procedió al aislamiento del virus rábico, para lo cual se prepararon emulsiones de los tejidos al 20% en solución salina estéril. Cada muestra de tejido antes de macerarse fué lavada tres veces consecutivas, con el propósito de eliminar sangre, pelos, saliva, etc.,

en cuanto a los riñones, se les despojó de su cápsula antes de que fueran lavados en solución salina estéril.

Las emulsiones elaboradas fueron tratadas con 1000 U. I. de penicilina G potásica y 1 mg. de dihidroestrep-tomicina sódica, por ml. de emulsión de tejido, después se procedió a centrifugar a 2,500 r. p. m., durante 10 minutos, separándose el sedimento del sobrenadante y este último constituirá el inóculo con cada uno de los inóculos preparados, se inocularon 5 ratones suizos blancos, lactantes, por vía intracerebral a dosis de 0.03 ml. por ratón.

Con los fragmentos de Cuerno de Ammon de los cerebros de los perros se hicieron las siguientes pruebas: Técnica de Sellar (9) y técnica de anticuerpos fluorescentes (15) (16), con el propósito de ratificar el diagnóstico de rabia las mismas técnicas se utilizaron en los cerebros de los ratones que mostraron signos de rabia, después de la inoculación.

BIBLIOTECA CENTRAL
O. M. A. M.

III.—RESULTADOS.

De los 10 casos de perros estudiados, 7 cerebros fueron positivos a rabia, observándose corpúsculos de Negri con la coloración de Seller y fluorescencia positiva, de los mismos siete cerebros se aisló el virus por inoculación intracerebral a ratones de 21 días de edad; el período de incubación varió de 5 a 9 días.

De los otros tres cerebros que fueron negativos a Seller y anticuerpos fluorescentes, no se logró aislar el virus después de hacer la inoculación a ratones de 21 días de edad. Los ratones fueron sacrificados a los 30 días haciéndose la prueba de Seller y anticuerpos fluorescentes resultando en ambas negativas.

Las muestras de cerebro, pulmón, riñón y vejiga de un perro resultaron positivas, habiéndose logrado aislar el virus de estos tejidos. Estas muestras se inocularon a ratones de 21 días de edad, los cuales presentaron los siguientes síntomas: Erizamiento del pelo, arqueamiento del dorso, incoordinación, y la muerte. (Cuadro I). De

ninguno de los seis animales restantes se logró aislar el virus de esófago, pulmón, corazón, riñón, vejiga e hígado. Se observaron a los ratones inoculados con estas muestras durante 30 días, después de los cuales se sacrificaron y el cerebro de los mismos, se sometió a la prueba de Seller y de anticuerpos fluorescentes, resultando ambas, en todos los casos negativas.

CUADRO 1
Resultado de la inoculación intracerebral de ratones (¹), con órganos obtenidos de un perro positivo a rabia, en el Centro Antirrábico de la Ciudad de México.

Inóculos de	Dosis en ml.	Vía de inoc.	Período de incubación (¹¹)(días)	Técnica de Seller	Técnica de anticuerpos fluorescentes.
CEREBRO	0.03	I. C.	4	positivo	positivo
ESOFAGO	0.03	I. C.	---	N	N
PULMON	0.03	I. C.	5	positivo	positivo
CORAZON	0.03	I. C.	---	N	N
RIÑON	0.03	I. C.	6	positivo	positivo
VEJIGA	0.03	I. C.	6	positivo	positivo
HIGADO	0.03	I. C.	---	N	N

(¹).- Las inoculaciones se efectuaron en ratones de 21 días de edad.

(¹¹).- Período entre la inoculación y la aparición de los síntomas.

N.- En estos casos los ratones inoculados se observaron durante 30 días, resultando negativas las pruebas realizadas en los cerebros de los ratones.

IV.—DISCUSSION.

El virus rábico fué aislado en el presente trabajo de cerebro, pulmón, riñón y vejiga, de un perro infectado naturalmente, ésta observación coincide con lo ya estudiado por Da Silva (26, 27, 28, 29) y Johnson (11) y demuestra una vez más que el virus también puede aislarse de otros tejidos, diferentes al sistema nervioso central.

La vía de invasión del virus rábico es a lo largo de los trayectos nerviosos, ésta propagación centripeta es seguida u ocupada de una propagación centrífuga, (22). Está demostrado también que si el virus es inoculado directamente al cerebro, tiende a partir del punto de inoculación a difundirse en el eje cerebro espinal y a los nervios periféricos. (22)

Seguramente esta difusión del virus a todo el sistema nervioso es lo que hace posible aislar el virus, como en este caso de otros tejidos que no sean del sistema nervioso central. Podemos atribuir esta difusión del virus primero a la virulencia del mismo ligado a una característica de mayor invasividad.

Los resultados obtenidos en este trabajo probablemente se debieran a la alta patogenicidad del virus y a la posible infección masiva del mismo, por lo que pudo invadir otros tejidos en el curso de la patogenia normal del virus.

La presencia de virus rábico en estos tejidos, está relacionada con la cantidad de tejido nervioso que contienen. Los órganos de los cuales se aisló el virus están suficientemente inervados por las ramificaciones del vago y simpático, que en este caso contenían el número suficiente de dosis infectante, como para producir la infección en animales susceptibles.

El corto periodo de incubación del virus en el presente trabajo probablemente se debió, (aunque no se realizó titulación del virus), al posible alto título de virus existente en estos tejidos. Ya que es conocido el hecho de que a mayor concentración de virus, menor período de incubación. (38)

El hecho de que no se haya aislado el virus de los tejidos de los casos restantes, no quiere decir que no haya existido, sino que tal vez la cantidad del mismo no era lo suficientemente alta como para desencadenar la infección en los animales susceptibles.

Pacheco y Proenca (17) y Reagan y col. (20) opinan que el virus rábico es transportado a otros tejidos por vía sanguínea, hecho que hasta la fecha no se ha podido demostrar en ningún caso de infección natural. Estos

investigadores en sus estudios realizados ocuparon casos en los que a los animales se infectaron artificialmente, en los cuales pudieron haber inoculado dosis masivas de virus. Está plenamente demostrado que el aislar virus rábico de la sangre es lo excepcional y no lo natural. (14) Ya que en muchas ocasiones se ha intentado demostrar un posible estado de viremia, que a la fecha no se ha conseguido.

Por lo que respecta a las posibles vías de infección digestiva y respiratoria, descritas por Atanasiu, Constantine y Scøave, son elásticas pues carecen de ciertos datos para poder llegar a establecer de una manera más concreta la posibilidad de las mencionadas vías de infección. (2) (24) (32)

Lo que si se ha conseguido demostrar, es la presencia del virus rábico en la grasa café de la glándula interescapular de murciélagos hematófagos. (22) (38) (40)

De los 10 casos de perros, utilizados en el presente trabajo, solamente en 7 casos se logró aislar el virus rábico de cerebro.

De un solo caso se consiguió, aislar el virus rábico de pulmón, riñón y vejiga.

VI.—BIBLIOGRAFIA.

1.—**Atanasiu, P. (1965a)**. El cultivo de virus rábico y su multiplicación en células B H K21 Cl3. Bol. Oficina San Panam. 58 (4):285-293.

2.—**Atanasiu, P. (1965b)**. Transmisión de la rabia por las vías respiratorias a los animales de laboratorios. Bol. inf. Centro Panam. Zoonosis. 7 (3): 13.

3.—**Avery, R. J., Tailyour, J. M. (1960)**. The isolation of the rabies virus from insectivorous bats in British Columbia. Canad. J. Comp. Med. 24: 143.

4.—**Bell, J. F., Moore, G. T., Raymond, G. H., Tibbs, C.E. (1962)** Characteristics of rabies in bats in Montana. Amer. J. Publ. Hth. 52: 1293-1301.

5.—**Constantine, D. G. (1962)**. Rabies transmission by nonbite route. Publ. Hlth. Reports. 77: 287-289.

6.—**Constantine, D. G. (1965)**. Recent advance in our knowledges of bat rabies. International Symposium on Rabies. 1: 251-254. Tallores, France.

7.—Dean, D. J., Evans, W. N., McClure, R. C. (1963). Pathogenesis of rabies. Bull. Wld. Hlth. Org. 29: 803-811.

8.—Girard, K. F., Hitchcock, H. B., Edsall, G., MacCready, R. A. (1965). Rabies in bats in Southern New England. New Engl. J. Med. 272 (2): 75-80.

9.—Goldwasser, R. A., y Kissling, R. E. (1958). Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 98: 219-223.

10.—Johnson, H. N. (1959). Rabies in insectivorous bats of North America. Proc. 6th. Int. Cong. Trop. Med. and Malaria. 5: 559-567.

11.—Johnson, H. N. (1961). Rage des chauves-souris: isolement du virus rabique dans le tissu pulmonaire et musculaire d'une chauve-souris. *Tadarica brasiliensis mexicana*. (saussure) naturellement infectée. WHO/Bab/148, 2 pp.

12.—Johnson, H. N. (1966). Sporadic cases of rabies in wildlife: relation to rabies in Domestic animales and character of virus. Proc. Nat. Rabies Symposium CDC, pp. 25-30.

13.—Kissling, R. E. (1958). Growth of rabies virus in non-nervus tissue culture. Proc. Expl. Biol. 98: 223-225.

14.—Krause, W. W. (1966). La patogenia de la rabia. International Symposium on Rabies. Talloires 1965; Symp. Series immunobiol. Standard., Vol. 1 pp. 153-158. (Karger, Basel, New York).

15.—O. M. S., (1967). Serie técnica. Núm. 23 Técnica de laboratorios aplicadas a la rabia. 12. p. 13.

16.—O. M. S., (1959). Procedimientos de laboratorio aplicadas a la rabia. p. 24.

17.—Pacheco, G., Proenca, M. C. (1936). Ovirus da raiva bovina do Brasil circulano sangue e se pode transmitir por vía sanguínes (nota previa) Brasil Med. No. 31, Ano L: 661.

18.—Pawan, J. L. (1955). Rabies in bats. Vet. Bull. Lederle, Vol. 14, No. 4 November.

19.—Rausch, R. (1958). Some observations on rabies in Alaska, With special reference to wild canidae. J. Wldl. Manag., 22: 246-260.

20.—Reagan, L. R. et al. (1955). Early appearance of rabies virus in the blood of cave bats exposed by intraperitoneal infection. Cornell Vet. 45: 15-156.

21.—Remillard, G., (1958). Histochemical and microchemical observations on the lipids on the interscapular brown fat on the female vespertilioned bat, *Myotis lucifugus lucifugus*. Ann N. Y. Acad. Sci., Vol. 72, p. 3-63.

22.—Shindler, R. (1966). Patogenia de la infección rábica. International Symposium. pp. 147-152.

23.—Schneider, N. J., et al. (1957). Rabies in bats in Florida. Amer. J. Publ. Hlth., 47: 983-989.

24.—Shen, R. M. & Shumeikma, I. A. (1959). Susceptibility of white rats to oral infections with rabies strain of street virus. Zurn. Obs. Biol. No. 65810.

25.—Sikes, R. K. (1962). Pathogenesis of rabies in wild-life. I Comparative effects of varying doses of rabies virus inoculated into foxes and skunks. Amer. J. Vet. Res., 23: 1041.

26.—Silva R. A. (1965). Sobre o isolamento do virus rábico de pulmao, rins, cerebro, glândular submaxilares e parótidas de morcegos hematófagos da especie Desmodus rotundus. Veterinaria(Bol. inf. Soc. Bras. Med. Vet.) 3: 12-13.

27.—Da Silva, R. A., Da Souza, A. M. de & Lima, A. C. (1966). Isolamento de virus rábico do rim, coracao, e cerebro de bovino na infeccao natural. V. Congr. Panam. Med. Vet. y Zoot. Caracas, Venezuela, p. 582-583.

28.—Da Silva, R. A., e Souza, A. M. (1966). Aislamiento de virus rábico de pulmón, riñón, vejiga y otros tejidos diferentes de murciélagos hematófagos de la especie Desmodus rotundus. V Congr. Panamer. Med. Vet. y Zootcn. Caracas, Venezuela.

29.—Da Silva, R. A., e Souza, A. M. (1966). Sur l'isolamento au Brasil du virus rabique a partir du pulmoes, du coeur et de differente autrus tecido du vampires hematophages apparttenant a L'espece Desmodus rotundus rotundus. Bull. Off. Int. Epiz. Vol. 6. p. 741-745.

30.—Da Silva, R. A. & Souza, A. M. (1967). Ocorrencia do virus da raiva en differetes tecidos do caona coenca doenca natural. I Semin. Nac. sobre Rabia, Medellín, Colombia, p. 197-199.

31.—Da Silva, R. A., e Souza, A. M. (1968). A ocorrencia do virus da raiva no útero, Feto, testículos e outros orgaos

de morcego hematophagos, *Desmodus rotundus* na infeccao natural. (En prensa).

32.—Soave, O. A. (1966). Trensmission of rabies virus to mice by ingestion of infected mouse brain. Amer. J. Vet. Res., 27: 44.

33.—Sulkin, S. E., Krutzsch, H. P., Wallis, C. y Allen, R. (1957). Role of brown fat in pathogenesis of rabies insectivorous bats (*Tadarida b. mexicana*). Proc. Soc. Expl. Biol. and Med. 92 (2): 461464.

34.—Tierkel, E. S., Arbona, G., Rivera, A. de Juan (1952). Amongoose rabies in Puerto Rico. Publ. Hlth. Rep., 67: 274-278.

35.—Tierkel, E. S. (1959). Rabies. Advances in Veterinary Science. Vol. Academic. Press, New York.

36.—Torres, S., Lima, E. Q. (1935). A raiva e os morcegos hematophagos (*Desmodus rotundus murinos*). Rev. Dep. Nac. Prod. Animal, 2: 385.

37.—Torres, S., Lima, E. Q. (1936). A raiva e os morcegos hematophagos: morcegos que resisten a infeccao tornause portedores o eliminadores de virus. Rev. De. Nac. Prod. Animal. 3: 165.

38.—Comunicación Personal. Dra. Velázquez E. Aurora.

39.—Villa, R. B., Alvarez, B. L., y Domínguez, C. C. (1963). Presencia y persistencia del virus de la rabia en la glándula interescaupular de algunos murciélagos mexicanos.

Ciencia (revista Hispano Americana de Ciencias Puras y Aplicadas). Vol. 22 No. 5, p. 137-140.

40.—Villa, R. B., y Alvarez, B. L. (1963). Rabies virus in Kidney and other tissues of vampire bats in Western Mexico. Zoonosis Res. 2 (2): 77-82.

41.—Wimsatt, W. A. (1955). On the nature of the interscapular gland of the tropical American fruit bat *Artibeus jamicensis*. Leach. Anat. Res., Vol. 121, p. 549-563.

42.—World Health Organization (1966). Laboratory techniques in rabies Monograph Series No. 23, p. 81-84.

RECEIVED

APR 11 1967