

01672
5
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DETECCION DE VARIANTES ANTIGENICAS DEL VIRUS DE LA
RABIA PROVENIENTES DE DIVERSAS REGIONES DE MEXICO,
IDENTIFICADAS POR ANTICUERPOS MONOCLONALES.

T E S I S
Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS
AREA DE MEDICINA PREVENTIVA
p r e s e n t a
ELIZABETH LOZA RUBIO



Asesores: M.V.Z. Alvaro Aguilar Setien Ph.D.
M.V.Z. Raúl Vargas García. MSP., MPVM.
M.V.Z. Eliseo Hernández Baumgarten. Ph.D.
M.V.Z. Diódoro Batalla Campero

1992



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.

LISTA DE CONTENIDO.

	página
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
2.1. Justificación.....	8
2.2. Hipótesis.....	10
2.3. Objetivo general.....	11
2.4. Objetivos específicos.....	11
3. Material y Métodos.....	12
4. Resultados y discusión.....	15
5. Conclusiones.....	21
6. Recomendaciones.....	22
7. Literatura citada.....	23
8. Figuras.....	30
9. Cuadros.....	31
10. Anexo I.....	41

1. RESUMEN.

LOZA RUBIO ELIZABETH. Detección de variantes antigénicas del virus de la rabia provenientes de diversas regiones de México, identificadas por anticuerpos monoclonales. (Bajo la dirección de Alvaro Aguilar Setién, Raúl Vargas García, Eliseo Hernández Baumgarten y Diódoro Batalla Campero).

El objetivo fué detectar la existencia de variantes antigénicas del virus de la rabia, mediante anticuerpos monoclonales (AM) en 52 muestras de cerebros de diversas especies positivos a la enfermedad, provenientes de diferentes regiones del país, a los cuales se les hizo pase en ratón, y con los encéfalos de éstos se realizaron improntas que se estudiaron mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), usando ocho anticuerpos monoclonales antinucleocápside, y se realizó virus-neutralización (VN) empleando cinco AM dirigidos contra diferentes fracciones del virus. Resultaron siete variaciones antigénicas, una de las cuales correspondió a un lyssavirus de murciélago europeo tipo 2 (EBL2), el resto son cepas que poseen diferentes determinantes antigénicos con respecto al patrón de reactividad del serotipo 1; asimismo en las cepas que se probaron mediante VN se hallaron ligeras diferencias de neutralización. También se encontró en un vampiro, virus con patrón de reactividad idéntico al serotipo 1.

Se concluye que en el país existen variantes antigénicas del virus rábico, las cuales pueden ser identificadas con AM, esto es importante para una mejor comprensión de la epidemiología de la enfermedad. Se recomienda continuar este tipo de estudios bajo un modelo de especie y regionalización.

2. INTRODUCCION.

La rabia es una enfermedad infecciosa, de curso agudo y mortal, única por su capacidad para afectar a todos los mamíferos, ampliamente distribuida en el mundo (6, 11, 19, 37), clasificada como zoonosis y en cuyo determinismo interviene casi siempre la agresión de un animal enfermo (11, 37).

Desde el punto de vista epidemiológico hay dos formas de rabia, la forma urbana que se propaga sobre todo entre los perros, y la forma silvestre que se observa principalmente en los zorros, chacales, lobos, coyotes, mangostas, murciélagos y otros animales silvestres (26, 36).

En los países industrializados la rabia de tipo urbano transmitida al humano por perros y gatos está prácticamente eliminada, predominando la rabia de tipo silvestre (6).

En las regiones tropicales de América Latina el reservorio de la fauna silvestre es el murciélago hematófago que plantea problemas importantes. Los vampiros pueden morir a consecuencia de la rabia y la pueden transmitir por períodos largos de tiempo sin que se observen manifestaciones clínicas (26). Como estos quirópteros se alimentan exclusivamente de sangre se han multiplicado en las regiones tropicales donde hay cría de ganado vacuno, en quienes encuentran su alimento con facilidad, causando graves pérdidas alimentarias y económicas (1, 19, 26). En México la plaga de este murciélago se extiende a lo largo de la costa occidental desde Sonora hasta Chiapas, y en la oriental desde sur de Tamaulipas hasta Quintana Roo (19, 23).

La rabia canina es importante aún en muchos países subdesarrollados del mundo, donde los perros infectados representan la mayoría de los 75,000 casos que ocurren cada año (6). La diseminación natural de la rabia canina depende en gran

medida de la tradición en la relación hombre-perro. Se sabe que el perro se convierte fácilmente en vagabundo debido a factores socioeconómicos y a la irresponsabilidad de sus dueños. Los perros callejeros juegan un papel muy importante en la propagación de la enfermedad ya que encuentran condiciones ideales en las áreas urbanas, principalmente las marginales, debido a que su estructura y densidad se ve favorecido por el correlativo incremento de los asentamientos humanos (27, 30, 36, 38, 43, 45).

En la Ciudad de México se estimó que la población canina era de 2'753,299 perros en 1979, con una media de 55.38 por Km² y una relación hombre-perro de 1:6, (aunque en algunas delegaciones es más elevada) proporción comparativamente alta en relación con otras ciudades del mundo (9). Esta especie es la responsable de más del 82% de las agresiones en humanos en los últimos años (23, 32, 37) siguiéndole los quirópteros con un 6.5% (37).

El virus de la rabia pertenece a la familia **Rhabdoviridae**, que contiene tres géneros: 1) **Vesiculovirus**, con el virus de la estomatitis vesicular como virus tipo, 2) **Lyssavirus**, con el virus de la rabia como su virus tipo y 3) un género sin nombre oficial que contiene a los rhabdovirus de las plantas. Los dos primeros géneros son virus cilíndricos con un extremo redondeado y el otro aplanado, con forma de bala. Los virus de las plantas son descritos como baciliformes por tener ambos extremos redondeados.

En el pasado se consideró que el virus de la rabia aislado de diferentes especies animales en varias partes del mundo, era antigénicamente homogéneo (2, 13). Sin embargo, Wiktor y Clarck (40), demostraron mediante el método de reducción de placas, que los anticuerpos antirrábicos producidos en animales inmunizados con virus de varias cepas de distintos orígenes denotaban algunas diferencias en la composición antigénica, que se manifestaban por ligeras

diferencias en los títulos de seroneutralización.

Gracias al advenimiento de los anticuerpos monoclonales (AM) (12, 14, 20, 23), fueron posibles estudios más específicos. En 1978, Wiktor y Koprowski (41) lograron la fusión de células de mieloma P3x63Ag8 con esplenocitos obtenidos de ratones inmunizados con vacuna cepa ERA, dando como resultado gran cantidad de anticuerpos monoclonales que ofrecieron diferente especificidad al interactuar con varias cepas del virus de la rabia; así los AM producidos por hibridomas reconocieron determinantes antigénicos de a) sólo de la proteína de la cubierta viral, b) sólo de la nucleocápside, c) comunes a la proteína de la cubierta viral y a la nucleocápside y d) de especificidad desconocida identificada únicamente por la unión del anticuerpo y las células infectadas mediante radioinmunoensayo.

Flamand y col (7, 8) posteriormente notifican el uso de AM dirigidos contra la nucleocápside empleando Inmunofluorescencia o ensayo inmuno enzimático (ELISA), con el fin de diferenciar miembros del grupo Lyssavirus; y AM antiglicoproteína utilizando virus-neutralización, para dirimir entre varias cepas de virus rábico (4). Gracias al uso de AM pudo hacerse la siguiente clasificación del grupo rábico de **Rhabdoviridae**, género **Lyssavirus**:

- Serotipo 1. Cepa prototipo de virus patrón de prueba (CVS) 24; que incluye la mayor parte de los virus hallados en el campo y de las cepas de laboratorio de los distintos países, así como los que por primera vez se han aislado de roedores de Europa Central.

Serotipo 2. Cepa prototipo de murciélago de Lagos, aislada por primera vez de una mezcla de encéfalos de murciélagos de Nigeria, y después de un murciélago en la República Centroafricana.

Serotipo 3. Cepa prototipo Mokola, aislada por primera vez en musarañas de

Nigeria, posteriormente en el hombre, animales silvestres y domésticos de países africanos.

Serotipo 4. Cepa prototipo Duvenhage, aislada por primera vez en el hombre en Sudáfrica, después en murciélagos de Sudáfrica y Europa Central (13, 20, 24, 43).

Wiktor y Koprowski (42), por otra parte fueron los primeros en hacer notar la importancia de las diferencias antigénicas en la profilaxis de la rabia. Al realizar un estudio donde produjeron variantes del virus en el laboratorio o las seleccionaron en forma natural, estudiaron la especificidad antigénica de estas variantes empleando AM, realizaron pruebas de protección cruzada en ratones inmunizados mediante vacunas de rabia estándar o vacunas producidas por medio de variantes y desafiados con virus homólogos y heterólogos.

Lothar Schneider, investigador germano (31) utilizando los AM en virus aislados de regiones geográficas y especies animales diferentes, concluye que la existencia de variantes es mundial en mayor o menor grado, e informa que todos los virus probados provenientes de Africa, tenían al menos un determinante en común y que las cepas de Asia difieren ligeramente entre sí, pero significativamente de las otras. Este autor cita por primera vez la importancia que pueden tener los AM en investigaciones epidemiológicas.

Charlton y col (3) estudiaron 19 cepas de virus rábico, provenientes en su mayoría de fauna silvestre de diferentes regiones de Canadá usando AM; este trabajo permitió reconocer tres grupos de virus con diferentes patrones de nucleocápside, así como diferencias entre un aislamiento en Ontario, y dos de Manitoba. Tiempo después, Webster y col (39), utilizan un panel de AM con especificidad más fina que los anteriores y realizan la detección de variantes antigénicas de virus rábicos, aislados de diferentes especies originarias de las

regiones Este, Centro y Norte de Canadá. Encuentran tres grupos de variantes: la primera comprende mamíferos terrestres originarios de Ontario. Quebec y los territorios del Noroeste; la segunda que abarca los mamíferos terrestres provenientes de Manitoba y la tercera incluye murciélagos oriundos de Ontario.

En 1983, Sureau y col (35) son los primeros en dar a conocer un análisis epidemiológico en donde evalúan virus aislados de diferentes partes del mundo, así como de diferentes especies, para detectar variaciones antigénicas y establecer la distribución geográfica de serotipos antigénicos específicos. Mencionan que tales variantes podrían estar implicadas en fallas de tratamientos vacunales de personas expuestas o de animales inmunizados profilácticamente. Debido a la probable reacción cruzada entre las cepas usadas para la producción de vacunas y el virus de la calle prevalente en una región.

Rupprecht y col (29), al estudiar la epidemiología de las variantes del virus de la rabia utilizando análisis discriminante, encontraron que hay diferencias entre virus aislados de animales terrestres (zorros, mofetas) y de animales no terrestres (murciélagos); asimismo enfatizan que el uso de esta técnica (AM) puede incrementar el conocimiento sobre la dinámica de la rabia silvestre y facilitar el control racional de la enfermedad.

En estudios posteriores, se detectaron variantes antigénicas de virus rábicos en cerebros de diferentes especies provenientes de Europa, Africa y Norteamérica, así como de muestras procedentes de Argentina, Colombia, Guyana y Trinidad, en donde los virus rábicos de calle difirieron significativamente en su estructura antigénica con los de las cepas vacunales. El análisis de virus rábicos reveló dos grupos predominantes: un grupo aislado de perros, ganado y humanos que es similar al tipo de virus europeo (cepa Pasteur), por lo que este espécimen pudo haberse originado en Europa; el segundo grupo que circula en vampiros,

frecuentemente se asocia con ganado infectado vía estos quirópteros, parece ser nativo de Sudamérica. La gran conclusión que emerge de este análisis antigénico de varias cepas de virus rábico, es que parecen estar asociadas con huéspedes mamíferos, limitados a una región geográfica dada (4).

Germano y col (10) identificaron cinco cepas del virus de la rabia en el noroeste de Brasil y dos en el sureste, y concluyen que en las regiones estudiadas existen diferentes cepas de virus de rabia, cuya distribución no parece guardar relación con las especies animales a partir de las cuales se aislaron los especímenes, ni con la procedencia geográfica de éstas, lo cual difiere de otros autores (4, 43). El aislamiento antigénico de virus rábico proveniente de Europa, Africa, Norteamérica y Sudamérica demuestra la utilidad del panel de anticuerpos monoclonales en estudios epidemiológicos (4).

En México, las características antigénicas de las cepas provenientes de vampiros y de perros han sido poco estudiadas (2, 19, 20, 23).

2.1. JUSTIFICACION.

A pesar de los esfuerzos realizados durante esta década, la rabia continua siendo un problema en América Latina. Ciertos países han obtenido algunos progresos; pero la mayoría esta aún lejos de cumplir con el programa de erradicación de la rabia urbana para 1990 propuesto por la Organización Panamericana de la Salud (25).

La importancia de la Rabia para la Salud Pública no radica en el número de casos, sino en la letalidad, prácticamente de 100% de los enfermos. Es importante asimismo, el impacto emocional y psicológico, el sufrimiento y la ansiedad de los individuos mordidos ante el temor de contraer la enfermedad (28, 30, 37), así como el daño económico que ocasiona por concepto de : horas-hombre perdidas en los tratamientos antirrábicos, costo del mismo, servicios médicos y en el caso del derriengue los daños directos e indirectos que ocasiona a la ganadería (23, 37, 44).

En México, la tasa promedio de casos de rabia estimada durante el decenio de 1950-1959 corresponde a 0.18X100,000 habitantes, la cual permanece hasta el período 1960-69; sin embargo para el período de 1970-1979 decrece hasta llegar a 0.13 (37) y de 1980-1989 aumentó al pasar de 0.09X100,000 habitantes a 0.14, en los años de 1990-91 nuevamente disminuye hasta llegar a 0.08X100,000 y 0.06X100,000 respectivamente, afectando fundamentalmente al grupo de 5 a 14 años de edad (32). En lo que respecta a valores absolutos, el número promedio de casos fue francamente ascendente en el período de 1940-1949 con 46.3 casos, elevándose a 55.3 casos de 1950-1959 y a 74.1 durante 1960-1969, 73.2 entre 1970-1979 y entre 1980-1986 71.3 (39), para posteriormente disminuir hasta llegar a 48 en 1991*.

* D.G.M.P. 1991

Como se ha mencionado en párrafos anteriores, el virus de la rabia había sido considerado durante mucho tiempo como antigénicamente monotípico. No obstante, estudios recientes han permitido constatar que no es así, ya que si bien el virus rábico es más estable en la naturaleza que otros grupos virales, este agente se encuentra sometido en estas condiciones a una multitud de presiones selectivas a causa de la gran variedad de géneros y especies que puede afectar (2). Esto se ha podido demostrar gracias al advenimiento de los anticuerpos monoclonales, cuya habilidad para distinguir entre cepas de virus de rabia, vacunales y de la calle, muestra su valor como herramienta para el diagnóstico de la enfermedad y a través de su capacidad de caracterización antigénica, la clasificación de cepas de virus de acuerdo a su patrón de reactividad (2, 4).

El hallazgo de variantes antigénicas podría explicar porqué ocasionalmente puede fallar una vacunación antirrábica, al no dar protección ante la infección con cepas de campo (2, 10, 35).

La utilidad de los anticuerpos monoclonales en investigaciones epidemiológicas, ha sido demostrada a través del estudio de un gran número de virus aislados, que revelan la distribución geográfica de cepas dadas de virus rábico y su asociación con huéspedes mamíferos particulares; esto ayuda a un mayor conocimiento sobre la enfermedad lo que puede ser utilizado para dictar medidas preventivas y así lograr un mejor control del padecimiento (2, 4, 10, 29, 34, 35, 39, 42, 43).

2.2 HIPÓTESIS.

El virus de la rabia en México tiene variantes antigénicas identificables por anticuerpos monoclonales, asociadas a la especie de procedencia y a su ecosistema.

2.3. OBJETIVO GENERAL.

Detectar la existencia de variantes antigénicas del virus de la rabia, mediante anticuerpos monoclonales, en muestras de cerebros de diferentes especies positivos a la enfermedad, provenientes de distintas regiones geográficas de los centros de diagnóstico seleccionados.

2.4. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- a) Identificar variantes antigénicas del virus rábico utilizando anticuerpos monoclonales, en muestras de cerebros de diversas especies animales positivos a la rabia.
- b) Identificar si existe un patrón de relación entre las especies animales donde se detecte alguna variante antigénica, y su distribución geográfica.
- c) Valorar los resultados en su potencial para fines de prevención y control.

3. MATERIAL Y METODOS.

El estudio se llevó a cabo en cuatro fases, que fueron las siguientes:

Fase I. Recolección de muestras. Se recolectaron 162 muestras de diferentes regiones geográficas, de las que solamente se eligieron 52 por su disparidad en cuanto a especie y procedencia geográfica. Estas provenían del Centro Nacional de Sanidad Animal, ubicado en Tecamac, Estado de México, del Laboratorio de Diagnóstico Veterinario en el Distrito Federal (Sanidad Animal, S.A.R.H.) y del Rancho Torreón del Molino de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Veracruzana.

Fase II. Datos referentes a las muestras. Con la información descrita en el Anexo 1, se identificó la especie y procedencia geográfica de cada una de las muestras.

Fase III. Procedimiento de las muestras en el laboratorio.

Muestras de cerebros positivos (cepas).-Con los encéfalos infectados se prepararon suspensiones al 20%: se usó como diluyente solución salina tamponada con fosfatos, a la que se le agregó un 0.75% de albúmina bovina, fracción V con antibióticos (BAPS), se almacenó a -70 °C hasta su uso.

Prueba biológica.- las suspensiones se descongelaron y centrifugaron a 1000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se colocó en viales de 2 ml previamente etiquetados con la identificación y se inyectaron vía intracerebral (0.03 ml) a seis ratones albinos de 21 días por cada cepa (15). Cuando los animales estuvieron agónicos y con los signos característicos de rabia se sacrificaron para obtener sus cerebros, los que representaron el material de estudio. Dos cerebros se utilizaron en la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y cuatro para determinar el título viral y posteriormente realizar la virus neutralización (VN).

Inmunofluorescencia indirecta (IFI).- Los dos cerebros anteriormente señalados se guardaron en cajas de Petri a -70°C , para luego realizar la IFI según Kaplan, M.M. y Koprowski, H., 1976 (5, 15).

Anticuerpos monoclonales (AM).- Se utilizó un panel reducido de ocho anticuerpos monoclonales dirigidos contra la nucleocápsida* por cada cepa; el cual consta del AM 1 que es positivo con los cuatro serotipos de lyssavirus: Serotipo 1, tipo CVS; serotipo 2, Lagos; serotipo 3, Mokola y serotipo 4, Duvenhage. AM 2 es positivo con el serotipo 1 y con el EBL2 (Lyssavirus de murciélago europeo encontrado en *Myotis dasycneme* (16). AM 3 es positivo con los serotipos 2, 3 y 4 y con EBL1 (encontrado también en murciélagos europeos). AM 4 sólo es positivo con el serotipo 3. AM 5 es negativo en caso de ser serotipo 4. AM 6 es negativo en caso de ser serotipo 4, AM 6 y AM 8 tienen fluorescencia negativa con EBL1 y positiva con la mayoría del serotipo 2, con algunas excepciones: AM 6 es negativo con Lagos 1 y AM 8 es negativo con Lagos 3. El AM 7 fue agregado al panel para poder distinguir EBL2 (+ con AM 7) del serotipo 1 (- con el AM 7) (25) (Cuadro 1) (22).

Como testigos negativos fungieron improntas de cerebro normal de ratón y como testigos positivos, cerebros de ratón infectados con virus estándar fijo (CVS).

Los resultados se obtienen con un signo negativo (-) cuando no haya fluorescencia, y uno positivo (+) en caso de existirla; de esta manera se detecta si hay variantes antigénicas entre virus de rabia y virus relacionados. Virus neutralización.- Con los cuatro cerebros restantes, se hizo una suspensión al 20% empleando BAPS como diluyente; con el sobrenadante de las cepas que por IFI resultaron diferentes antigénicamente se realizó la titulación del virus por el método de Reed y Muench (15), una vez obtenido el título se calcularon las dosis letales y

*Dra. Monique Lafon. Instituto Pasteur, Francia.

se hizo el ajuste de cada una de ellas para obtener la dilución que contenía entre 50-100 dosis letales (DL) 50%, y así ser empleadas como virus de desafío en la VN; también se utilizaron para realizar esta prueba cinco anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes fracciones del virus rábico*, siguiendo la metodología señalada por Wiktor, T.J. y Koprowski, H., 1980 (42). El testigo positivo fue CVS usado en VN con suero antirrábico hiperinmune de cobayo; el testigo negativo fue CVS empleado con suero negativo para anticuerpos antirrábicos. Los resultados se interpretaron como lo describe Charlton, K.M. y col., 1982 (3).

Fase IV. Análisis de los resultados. Estos son presentados en cuadros y gráficas.

* Dr Alvaro Aguilar S. I.M.S.S. México D.F.

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

En el Cuadro 2 puede apreciarse que el mayor número de muestras correspondió a los canideos con 20, lo cual representó un 38.46%. Le sigue la especie bovina con 17 (32.69%), cuatro casos de felinos (7.70%), dos de porcinos (3.85%), dos de equinos (3.85%), uno de caprino y uno de murciélago hematófago esto representa el 1.92% para cada muestra respectivamente.

Por lo que se refiere a humanos se trabajaron cinco muestras es decir un 9.61% del total. de los cuales tres (60%) procedían de Distrito Federal y dos (40%) del Estado de México. Las edades de los pacientes fluctuaban de los 5 a los 14 años, lo que coincide con lo señalado en estudios previos sobre esta enfermedad (28, 36). También se observó que ninguno de ellos había recibido tratamiento post-exposición. lo que confirma la necesidad de una mayor información a la comunidad sobre el tema.

Durante el periodo de este estudio, sólo se obtuvo un murciélago hematófago *Desmodus rotundus*. A pesar de que se habían recibido de la F.M.V.Z. de Veracruz, once muestras de murciélagos insectívoros, frugívoros y hematófagos positivas a inmunofluorescencia directa (IFD), cuando se realizó la prueba biológica los ratones no murieron. ya que la IFD había resultado positiva, se hicieron improntas directas a partir de los cerebros para realizarla IFI con el panel reducido, sin embargo todas resultaron negativas.

El Cuadro 3, muestra la distribución geográfica de las 52 cepas de virus rábico analizadas durante este estudio; así se tiene que fueron once los estados de la República de los que se estudiaron cepas, siendo el Estado de Michoacán del que se examinaron mayor número mientras que de Yucatán sólo se obtuvo una muestra. Este cuadro se completa con la figura 1 que es un mapa donde pueden

verse cada una de las regiones de donde provenían las muestras, además de los sitios en que se encontraron variaciones antigénicas. De las 52 cepas analizadas 45 (87.8%) corresponden al serotipo 1, y siete (13.2%) presentan variaciones antigénicas.

En el Cuadro 4 se representa el patrón de reactividad obtenido con los anticuerpos monoclonales dirigidos contra la nucleocápside después de realizar la IFI a las cepas de origen canideo, de este análisis se obtuvo que una cepa proveniente de Cuajimalpa, D.F., presentó el AM 3 como positivo. sin que pueda decirse de corresponde al serotipo 2 Lagos 2, ya que el AM 2 también resulto positivo; desgraciadamente no se recibió otra muestra de la misma región para poder compararlas. En este cuadro también se observa que de las 20 cepas obtenidas de esta especie, tres animales (15%) estaban vacunados, uno de ellos nueve meses antes, el resto es decir 17 (85%) no habían sido vacunados. Con respecto a su hábito, los grupos de perros callejeros y que callejean, representan un peligro potencial por su constante contacto con otros animales y con personas (36).

En el Cuadro 5 se observan los resultados correspondiente a la especie bovina donde puede apreciarse que cuatro cepas presentan variaciones antigénicas en su perfil de reactividad; la primera provenía de Pinotepa Nacional, Oaxaca la cual tuvo el AM3 positivo, de esta región se recibió otra muestra procedente de bovino, pero su patrón antigénico fué serotipo 1; la segunda era una cepa que provenía de Tlaxcala, Tlaxcala, en ella el AM 6 resultó negativo, aunque no puede decirse que se trate del serotipo 2 Lagos 2 porque el AM 2 es positivo, sin embargo cabe la duda debido a que en el esquema de Montaño y col (22) sólo se examinó fauna europea y podría suceder que en México se estuviese dando la presentación de cepas autóctonas, por lo que sería de interés poder producir anticuerpos monoclonales empleando nuestras propias cepas. La tercera cepa que reconoce

diferentes epítopes proviene de Peto, Yucatán en donde el AM 8 resulta negativo; no puede afirmarse que corresponde al serotipo 2 Lagos 3 ya que el AM 2 es positivo, lo cual es raro porque en tipificaciones con este mismo panel de AM sólo se informa de una cepa entre 25, con AM 8 (22). La cuarta cepa procede de Tecamachalco, Puebla presentó un patrón antigénico igual al de un lyssavirus de murciélago europeo tipo 2 (EBL2), que sólo ha sido reportado en dos ocasiones anteriores, una en 1986 procedente de un humano en Finlandia (21) el cual en un estudio previo se indica que es un Duvenhage tipo 8 (4), sin embargo en trabajos más recientes se le clasifica como serotipo 5 (17, 46); y la otra en Holanda aislado a partir de un murciélago insectívoro *Myotis dasycneme* (16). En este mismo cuadro, se observa que 10 (58.82%) de los 17 bovinos no presentaron historia de vacunación: 3 (17.65%), si la tenían (en ningún caso se registró que tipo de biológico fue el que aplicaron) y en 4 (23.52%), se desconocía si fueron o no vacunados.

En el Cuadro 6 se observan los resultados encontrados con las cinco cepas de origen humano, una de las cuales fue la que reconoció mayor número de determinantes antigénicos de todas las muestras que resultaron con diferencias antigénicas, el paciente de nueve años de edad fue agredido por un perro, en Ecatepec, Estado de México, este individuo no recibió vacunación. Por lo que respecta a las otras cuatro muestras correspondieron al serotipo 1 y la especie agresora fue la canina.

En el Cuadro 7 puede observarse el patrón de reactividad obtenido con diferentes especies, la mayoría de ellas fue serotipo 1; sin embargo la cepa proveniente de un porcino de Tlalpán, D.F. presentó un epítape diferente al presentar al AM 3 como positivo. Los animales de las especies incluidas en este cuadro no tenían antecedentes de vacunación.

Cabe mencionar que se examinó una cepa de murciélago hematófago **Desmodus rotundos** proveniente de Tejupilco, Estado de México, mascota de una familia nativa del lugar, que en un momento dado se tornó agresivo y atacó a tres menores, quienes recibieron tratamiento post-exposición con vacuna tipo Fuenzalida. Los menores no murieron de rabia, sin embargo una pequeña padece del síndrome de Gillian Barré (parálisis). El vampiro se envió al Laboratorio Regional de Diagnóstico de Toluca y resultó positivo a la prueba de anticuerpos fluorescentes. Con el cerebro del animal se realizó una prueba biológica en ratones lactantes, uno de los cerebros resultantes fué el que se utilizó para realizar la IFI con AM antinucleocápside, de la que se obtuvo un patrón de reactividad idéntico al del serotipo 1, lo cual coincide con King y col (17) y Montaña y col (22) que indican que en algunos murciélagos se ha encontrado este serotipo; pero difiere de Schneider (31) y Smith (33). Como consecuencia de este estudio, se sugiere realizar una tipificación de cepas de murciélagos de diferentes especies en un mayor número de muestras en el país para corroborar lo aquí expuesto.

En el cuadro 8 se muestra el patrón de reactividad las cepas que presentaron variaciones antigénicas, en este puede observarse que existe una diferencia (AM 3 positivo) que se detecta en tres diferentes especies y en dos regiones geográficas; las otras cuatro variaciones sólo se encontraron una vez cada una.

En cuanto a especie, la bovina fué la que predominó ya que se detectaron diferentes patrones de reactividad; por lo que respecta a la región el Distrito Federal fue el que presentó la mayor frecuencia, las demás variaciones se presentaron en diferentes localidades.

En este estudio puede decirse que la distribución de diferencias antigénicas no parece guardar relación con las especies de las que se aíslan, como se ha observado en Brasil (10); pero se contradice con otros trabajos (31). Para comprobar

esto último, es importante seguir analizando un mayor número de muestras bajo un modelo de especie y regionalización, con lo cual además se podrían hacer estudios epidemiológicos sobre la prevalencia y distribución de variantes antigénicas aumentando el conocimiento sobre su asociación con huéspedes mamíferos, sugiriendo las fuentes potenciales de exposición de animales domésticos y humanos.

Las variaciones antigénicas observadas entre cepas, pueden ser imputadas a las modificaciones que el virus de la rabia sufre al pasar de un huésped a otro o de una especie a otra.

En el transcurso del estudio se decidió realizar la VN a las cepas que por IFI resultaron diferentes, es decir a siete. Los resultados al calcular el título del virus rábico en cada una de las cepas, se muestra en el cuadro 9. Como puede observarse, los títulos varían entre $10^{1.28}$ hasta $10^{2.59}$. Se realizaron pases sucesivos en ratón para tratar de elevar el título (y por ende las dosis letales en los casos que no alcanzaron 50-100 dosis letales), siempre y cuando no sobrepasara de cuatro, ya que Koprowski y col (18) marcan que después de más pases podrían producirse variaciones antigénicas *in vitro*; no obstante Dietzschold y col (4) indican que tanto *in vivo* como *in vitro* pueden hacerse hasta 40 pases sin ningún cambio; en el presente estudio se realizaron tres pases, ya que incluso en los pases anteriores se alcanzaron las dosis letales necesarias para efectuar la VN, aunque en títulos bajos. Lo anterior puede sugerir que estas cepas, además de tener variantes antigénicas, poseen también variaciones biológicas; un hecho que apoya este acierto es que se titularon dos cepas de campo (bovino y vampiro) con patrón de reactividad idéntico al serotipo 1, y al pase uno presentaron títulos más altos que las otras, éstos fueron $10^{4.6}$ y $10^{4.9}$ dosis letal ratón 50% en 0.03 ml intracerebral.

El Cuadro 10 representa los resultados de la VN encontrada para el CVS (testigo positivo) y las dos cepas antigénicamente diferentes que se obtuvieron (humano y perro), usando cinco anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes fracciones del virus de la rabia. Para representar lo obtenido se tomó el criterio de Charlton y col (3) en donde señala que se toma por neutralizado al virus si sobreviven tres o más ratones inoculados y como no neutralizado si permanecen vivos menos de tres animales. A las cinco cepas que resultaron distintas no fué posible realizarles la VN, ya que estos anticuerpos son líquidos ascíticos que se obtienen in vivo a partir de ratones BALB-C, por lo que la cantidad que se recuperó fué insuficiente.

Así se tiene que el AM 1 es neutralizado con ambas cepas (perro, humano) a diferencia de lo que sucede con el CVS, lo cual indirectamente indica que esta cepa está adaptada a ratón a diferencia de las cepas de campo; cabe decir que el monoclonal 1 es un anticuerpo que no neutraliza bien al CVS, por lo que podría ser usado para determinar vacunas tipo Fuenzalida mal inactivadas. En los demás AM se encontraron ligeras diferencias antigénicas. Es de notarse que el testigo positivo de los AM (suero hiperinmune de cuy) neutralizó al virus estándar de desafío (CVS) y a la cepa de humano, pero no a la de perro, donde se detectan ligeras diferencias.

En el control negativo como era de esperarse todos los animales murieron. Aunque en el presente estudio los resultados con los AM producidos en México se vieron limitados, es de interés sentar un precedente y continuar con trabajos que ayuden a caracterizarlos por completo.

5. CONCLUSIONES.

La existencia de variantes antigénicas del virus de la rabia, sospechada desde hace mucho tiempo ha podido confirmarse en este estudio, primero que se realiza sobre este género en el país, gracias al advenimiento de los anticuerpos monoclonales. En este caso se empleo un panel reducido cuya utilidad se hace patente a lo largo del desarrollo de este trabajo, ya que su empleo es rápido y sencillo.

La distribución de las variantes antigénicas encontradas no parece guardar relación con las especies animales de las cuales se aislaron, ni con la procedencia geográfica de las mismas; sin embargo es necesario examinar un mayor número de muestras, bajo un posible modelo de especie y regionalización.

La identificación de las distintas cepas de virus de la rabia que existen en el país permitirá contar con más elementos para una mayor comprensión de la epidemiología de la enfermedad, lo cual es muy importante para lograr un mejor control.

6. RECOMENDACIONES.

Es de interés obtener un número mayor de muestras de las regiones donde se encontraron diferencias antigénicas para conocer si en realidad existe lo que algunos autores señalan acerca de que las variantes antigénicas guardan relación con las especies animales y su procedencia geográfica. Por otro lado continuar con la detección de variantes en cepas provenientes de otras regiones del país, especialmente de las que no se abarcaron en este estudio.

Realizar una tipificación con cerebros y grasas cárnicas de murciélagos, no solamente hematófagos, sino también frugívoros e insectívoros, para corroborar si en las poblaciones de quirópteros existe además del serotipo 2 como lo reportan varios autores, el serotipo 1 como se encontró en este estudio, y así comprobar la idea de que más de un virus circula en murciélagos.

Intentar elevar el título de las cepas con variantes en un modelo *in vitro* como pudieran ser las células BHK-21 (riñón de hámster bebé) o las NB (neuroblastoma de ratón), con el fin de realizar la virus neutralización, para probar los anticuerpos monoclonales realizados en el país; así como proveerse de la suficiente cantidad de éstos.

Realizar pruebas de protección cruzada, empleando algunas de las vacunas antirrábicas comerciales y las cepas que poseen variaciones antigénicas.

7. LITERATURA CITADA.

1. Acha,N.P. y Szyfres,B.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 3a ed. O.P.S. E. U.A., 1984.
2. Aguilar,S.A. y Kretschmer, S.R.: Anticuerpos monoclonales en enfermedades de origen viral. **Salud Pública Méx.** 27:251-259 (1985).
3. Charlton,K.M., Casey,G.A., Boucher,D.W. and Wiktor,T.J.: Antigenic variants of Rabies virus. **Comp.Immun.Microbiol.Infect.Dis.** 5:113-115 (1982).
4. Dietzschold,B., Rupprecht,C.E., Tollis,M., Lafon,M., Mattei,J., Wiktor,T.J. and Koprowski,H.: Antigenic diversity of the glycoprotein and nucleocapsid proteins of Rabies and Rabies related viruses: Implications for epidemiology and control Rabies. **Rev.Infect.Dis.** 10:S785-S798 (1988).
5. Dinter,Z.: Diagnostic Virology. Edited by: Moreno,L.J. **National Veterinary Institute.** Uppsala, Sweden, 1989.
6. Fenner,F., Bachman,P.A., Gibbs,E.P.J., Murphy,F.A., Studdert,M.J. and White,O.: Veterinary Virology. **Academic Press Inc.** London, 1987.
7. Flamand,A., Wiktor,T.J. and Koprowski,H: Use of hybridoma Monoclonal Antibodies in the detection of antigenic differences between Rabies and Rabies related virus proteins. I. The nucleocapsid protein. **J.Gen.Virol.**

48:97-104 (1980).

8. Flamand,A., Wiktor,T.J. and Koprowski,H.: Use of hybridoma Monoclonal antibodies in the detection of antigenic differences between Rabies and Rabies related virus proteins. II. The glycoprotein. *J.Gen.Virof.* **48**:105-109 (1980).
9. Fuentes,F.M.: Cálculo de la población canina de la Ciudad de México, determinación de sus condiciones de atención y destino. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México, México,D.F., 1979.
10. Germano, P.L.M., Silva,E.V., Miguel,O. y Sureau,P.: Variantes antigénicas del virus de la Rabia aisladas en el Nordeste y Sudeste de Brasil. Estudio Preliminar. *Bol.Of.Sanit.Panam.* **108**:39-44 (1990).
11. Gillespie,J.H. y Timoney,J.F.: Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. 4a ed. *La Prensa Médica Mexicana.* México,D.F., 1983.
12. Goding,J.W.: Monoclonal Antibodies: Principles and Practica. *Academic Press Inc.* London, 1983.
13. Hernández,B.E.: Propiedades Físicoquímicas y Serotipos del Virus Rábico. Simposio sobre La Atención Médica de las Personas Involucradas en un Incidente de Rabia. México,D.F. 1987. 84-95. *S.S.A., O.P.S., I.M.S.S.* Mexico,D.F., (1987).

14. Hood,L.E., Weissman,L.I., Wood,W.B. and Wilson,J.H.: Immunology. 2th ed. **The Benjamin Cummings Publishing Co.** California. U.S.A., 1984.
15. Kaplan,M.M. y Koprowski,H.: La Rabia. Técnicas de Laboratorio. 3a ed. **Organización Mundial de la Salud.** Ginebra, Suiza, 1976.
16. King,A. and Crick,J.: Rabies-related viruses. Edited by: Campbell,J.B. and Charlton,K.M. (165-174). **Kluwer Academic Publ.** Boston U.S.A., 1988.
17. King,A., Davies,P. and Lawrie,A.: The rabies viruses of bats. **Vet. Microbiol.** **23:** 165-174 (1990).
18. Koprowski,H., Wiktor,T.J. and Abelseth,M.K.: Cross Reactivity and Cross Protection: Rabies Variants and Rabies- Related Viruses, Edited by: Kuwert,C.E., Mérioux,C., Koprowski,H. and Bogel,K. 30-39. **Springer-Verlag.** Berlin., 1985.
19. Lara, S.A.V.: Enriquecimiento de clonas productoras de anticuerpos contra el virus de la rabia mediante transferencia adoptiva intraesplénica. Tesis de Maestría. **FES Cuautitlán.** Universidad Nacional Autónoma de México. México,D.F., 1988.
20. Lara,S.V., Ciprián,C.A. y Aguilar,S.A.: Incremento de linfocitos productores de anticuerpos contra el virus de la rabia, mediante transferencia adoptiva intraesplénica en ratones tratados con ciclofosfamida. **Archiv.Invest:Med.** **20:** 263-271 (1989).

21. Lumio,J., Hillborn,M., Roine,R., Ketonen,L., Halthia,M., Valle,M., Neuvonen,E. and Lahdewita,J.: Human rabies of bat origin in Europe. **Lancet**. 1:378 (1986).
22. Montaña,H.J.A., Bourghy,H. and Lafon,M.: A reduced panel of anti-nucleocapsid monoclonal antibodies for bat rabies virus identification in Europe. **Res. Virol**. **141**: 571-581 (1990).
23. Morilla,G.A.: Inmunología Veterinaria. **Diana**. México,D.F., 1989.
24. Organización Mundial de la Salud.: Séptimo Informe de Expertos de la O.M.S: sobre Rabia. **Organización Mundial de la Salud**. Ginebra, 1984.
25. Organización Panamericana de la Salud. VI Reunión Interpaíses sobre el Control de la Rabia. **O.P.S., S.S.A** México,D.F., 1988.
26. Ramírez,V.M.: Los Mecanismos de Exposición e Infección Rábica en el Ciclo Silvestre. Simposio sobre la Atención Médica de las Personas Involucradas en un Incidente de Rabia. México,D.F. 1987. 51-83. **S.S.A., O.P.S., I.M.S.S.** México,D.F., (1987).
27. Rodríguez,T.J.G.: Mecanismos de Exposición e Infección Rábica en: Riesgo de Trabajo. Simposio sobre la Atención Médica de las Personas Involucradas en un Incidente de Rabia. México,D.F. 1987. 96-102. **S.S.A., O.P.S., I.M.S.S.** México,D.F., (1987).

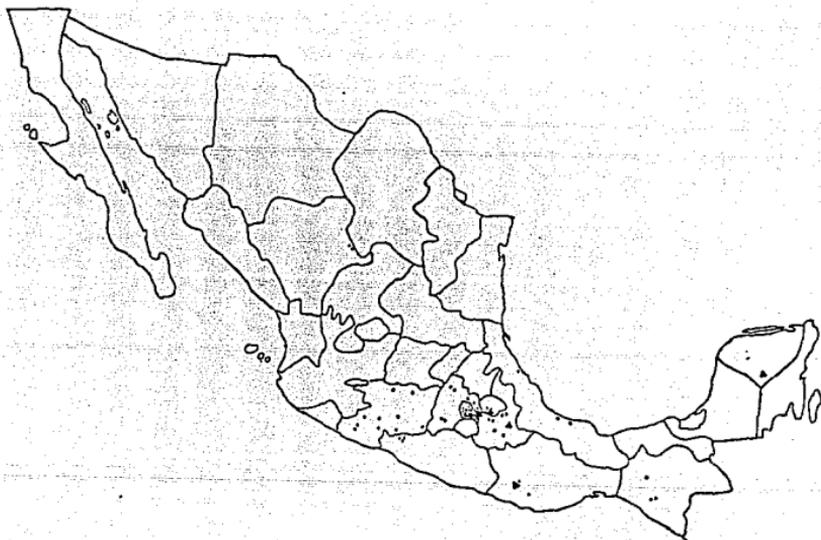
28. Rubi,C.E.M.: Modelo simplificado de vigilancia epidemiológica para prevenir la rabia humana en la zona nororiente del Valle de México. Tesis de Maestría. **Fac. de Med. Vet. y Zoot.** Universidad Nacional Autónoma de México México,D.F., 1990.
29. Rupprecht,C.E., Glickman,L.T., Spencer,P.A. and Wiktor,T.J.: Differentiation using monoclonal antibodies and discriminant analysis. **Am.J.Epidem.** **126:** 298-309 (1987).
30. Sánchez,T.M.T.: Aspectos epidemiológicos considerados en el tratamiento antirrábico de humanos en el Centro antirrábico "Luis Pasteur" de San Juan de Aragón, D.F., de 1980-1982. Tesis de Licenciatura. **Fac. de Med. Vet. y Zoot.** Universidad Nacional Autónoma de México. México,D.F. 1985.
31. Schneider,L.G.: Antigenic variants of Rabies virus. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.** **5:** 101-107 (1982).
32. Secretaría de Salud-Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.: Programa de Colaboracion Intersectorial S.S., S.A.R.H. en Salud Pública Veterinaria. **Secretaría de Salud Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.** México,D.F., 1990.
33. Smith,J.S.: Monoclonal antibody studies in insectivorous bats of the United States. **Rev.Infect.Dis.** **10:**S637-S643 (1988).

34. Sureau,P., Rollin,P.E., Chadl,S. y Zeller,H.: Etude á l'aide d'anticorps monoclonaux dex caractéristiques de souches de virus rabiques de Tunisie. *Arch.Inst.Pasteur.Tunis.* **59:**89- 87 (1982).
35. Sureau,P., Rollin,P. and Wiktor,T.J.: Epidemiologic analysis of antigenic variations of street Rabies virus: Detection by monoclonal antibodies. *Am.J.Epidem.* **117:**605-609 (1983).
36. Vargas,G.R.: Mecanismos de Exposición e Infección Rábica en el Ciclo Urbano. Simposio sobre la Atención Médica de las Personas Involucradas en un Incidente de Rabia. México,D.F. 1987. 45-50. **S.S.A., O.P.S., S.A.R.H.** México,D.F., (1987).
37. Vargas,P.F.: Situación actual de la Rabia en México. Simposio sobre la Atención Médica de las Personas Involucradas en un Incidente de Rabia. México,D.F. 1987. 17-43. **S.S.A., O.P.S., S.A.R.H.** Mexico,D.F., (1987).
38. Wandeler,A.I., Budde,A., Capt,S., Kappeler,A. and Matter,H.: Dog ecology and dogs Rabies control. *Rev.Infect.Dis.* **10:**S684-S688 (1988).
39. Webster,W.A., Casey,G.A., Charlton,K.M. and Wiktor,T.J.: Antigenic variants of Rabies virus in isolates from Eastern, Central and Northern Canada. *Can.J.Comp.Med.* **49:**186-188 (1984).
40. Wiktor,T.J. and Clarck,H.F.: Comparison of Rabies virus strains by means of the plaque reduction test. *Ann.Microbiol.* **124A:**283-287 (1973).

41. Wiktor,T.J. and Koprowski,H.: Monoclonal antibodies against Rabies virus produced by somatic cell hybridization: Detection of antigenic variants. **Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A., 75:3938-3942 (1978)**
42. Wiktor,T.J. and Koprowski,H.: Antigenic variants of Rabies virus. **J.Exp.Med. 152:99-112 (1980).**
43. Wiktor,T.J.: Monoclonal antibodies in Rabies virus research. In: **Veterinary Viral Diseases. (374-381) Academic Press Inc. Australia, 1985.**
44. World Health Organization.: **Guidelines for Dog Rabies Control. World Health Organization. Geneve, 1984.**
45. World Health Organization.: **Report of W.H.O. Consultation on Dog Ecology Studies Related to Rabies Control. World Health Organization. Geneve, 1988.**
46. World Health Organization.: **Report of fifth WHO Consultation of Monoclonal Antibodies in Rabies Diagnosis. World Health Organization. Geneve, 1989.**

FIGURA 1

REGIONES DE MEXICO DONDE SE RECOLECTARON LAS MUESTRAS DE
CEREBROS POSITIVOS A RABIA POR IFD



- SEROTIPO 1
- ▲ VARIACION ANTIGENICA

CUADRO 1

PATRON REACTIVIDAD OBTENIDO
DE UN PANEL REDUCIDO DE AM, PARA
DIFERENCIAR VIRUS DE RABIA Y VIRUS
RELACIONADOS

	AM 1	AM 2	AM 3	AM 4	AM 5	AM 6	AM7	AM8
SEROTIPO 1	+	+	-	-	+	+	-	+
EBL-2	+	+	-	-	+	+	+	+
SEROTIPO 2								
LAG-1	+	-	+	-	+	-	-	+
LAG-2	+	-	+	-	+	+	-	+
LAG-3	+	-	+	-	+	+	-	-
SEROTIPO 3	+	-	+	+	+	-	+	+
SEROTIPO 4	+	-	+	-	+	-	-	-

SEROTIPO 1 = CEPAS DE LABORATORIO; EBL1 = CEPAS DE *E. serotinus* Y UN CASO HUMANO (YULI, URSS); SEROTIPO 2 = LAGOS BAT; SEROTIPO 3 = MOKOLA; SEROTIPO 4 = DUVENHAGE; EBL2 = CEPAS DE *Myotis dasycornis* Y UN CASO HUMANO (FINLANDIA)

CUADRO 2

ORIGEN DE LAS CEPAS DE VIRUS RABICO
DE ACUERDO A LA ESPECIE ANIMAL

I ANIMALES DOMESTICOS	NUMERO DE MUESTRAS	%
CANIDEOS	20	38.46
BOVINOS	17	32.69
FELINOS	4	7.70
PORCINOS	2	3.85
EQUINOS	2	3.85
CAPRINOS	1	1.92

II ANIMALES SILVESTRES		
MURCIELAGO HEMATOFAGO	1	1.92

III HUMANOS	5	9.61
-------------	---	------

TOTAL	52	100.00
-------	----	--------

CUADRO 3
DISTRIBUCION DE CEPAS DE ORIGEN RABICO

ESTADO	MUNICIPIO o COLONIA	No EXAMINADO
CHIAPAS	ESCUINTLA (3), TUXTLA GUTIERREZ (1)	3
DISTRITO FEDERAL	CUAJIMALPA (3), NUEVA ATZACOALCO (1), ROJO GOMEZ (1), TLALPAN (1), CULHUACAN (1)	7
DURANGO	GOMEZ PALACIO (2)	2
ESTADO DE MEXICO	CUAUTITLAN (2), COACALCO (1), ECATEPEC (3), TEJUPILCO (2), TEXCOCO (2), COATEPEC (1)	11
GUERRERO	CUTZAMALA (3)	3
MICHOACAN	COALCOMAN (2), TINIJARO (1), TACAMBARO (1), HUETAMO (1), HUACANA (1), URUAPAN (1), STA. ANA MAYA (1), APATZINGAN (1), PURUANDIRO (1)	10
OAXACA	JAMILTEPEC (1), PINOTEPA NACIONAL (2)	3
PUEBLA	PUEBLA (2), SANTIAGO MIAHUATLAN (1), QUECHOLAC (1), TLACOTEPEC (1), TECAMACHALCO (2)	7
TLAXCALA	TLAXCALA (2)	2
VERACRUZ	MEDELLIN (1), NAUTLA (1), SANTIAGO TUXTLA (1)	3
YUCATAN	PETO (1)	1

(#) No DE CASOS POR REGION

TOTAL	52
--------------	-----------

CUADRO 4
PATRON DE REACTIVIDAD ANTICUERPOS MONOCLONALES
ANTI-NUCLEOCAPSIDE
OBTENIDAS DE CEPAS DE ORIGEN CANIDEO

No DE MUESTRA	PROCEDENCIA GEOGRAFICA	VACUNACION	HABITO	ANTICUERPOS MONOCLONALES							
				1	2	3	4	5	6	7	8
CONTROL POSITIVO CVS				+	+	-	-	+	+	-	+
CONTROL NEGATIVO CNR				-	-	-	-	-	-	-	-
1	*CUAJIMALPA D.F.	NO	DOMICILIADO	+	+	-	-	+	+	-	+
2	GOMEZ PALACIO DGO	NO	CALLEJERO	+	+	-	-	+	+	-	+
3	TEXCOCO EDO DE MEX.	NO	CALLEJERO	+	+	-	-	+	+	-	+
4	TEXCOCO EDO DE MEX.	NO	CALLEJEA	+	+	-	-	+	+	-	+
5	TEJUPILCO EDO DE MEX.	NO	CALLEJERO	+	+	-	-	+	+	-	+
6	ECATEPEC EDO DE MEX.	NO	CALLEJERO	+	+	-	-	+	+	-	+
7	CUTZAMALA GRO	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
8	CUTZAMALA GRO.	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
9	CUTZAMALA GRO.	NO	DOMICILIADO	+	+	-	-	+	+	-	+
10	HUACANA MICH.	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
11	APATZINGAN MICH	SI	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
12	STA. ANA MAYA MICH.	SI	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
13	PURUANDIRO MICH.	NO	DOMICILIADO	+	+	-	-	+	+	-	+
14	HUETAMO MICH.	NO	DOMICILIADO	+	+	-	-	+	+	-	+
15	JAMILTEPEC OAX.	DESC.	CALLEJERO	+	+	-	-	+	+	-	+
16	PUEBLA PUE.	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
17	PUEBLA PUE.	SI	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
18	QUECHOLAC, PUE	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
19	SANTIAGO MIAHUATLAN PUE.	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
20	TECAMACHALCO PUE	NO	CALLEJERO	+	+	-	-	+	+	-	+

*VARIACION ANTIGENICA

CUADRO 5
PATRON DE REACTIVIDAD ANTICUERPOS MONOCLONALES
ANTI-NUCLEOCAPSIDE
OBTENIDAS DE CEPAS DE ORIGEN BOVINO

No DE MUESTRA	PROCEDENCIA GEOGRAFICA	VACUNACION	HABITO	ANTICUERPOS MONOCLONALES							
				1	2	3	4	5	6	7	8
CONTROL POSITIVO CVS				+	+	-	-	+	+	-	+
CONTROL NEGATIVO CNR				-	-	-	-	-	-	-	-
1	ESCUINTLA CHIS.	NO	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
2	TUXTLA GUTIERREZ CHIS.	DESC.	EXTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
3	CUAJIMALPA D.F.	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
4	CUAUTITLAN EDO DE MEX.	NO	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
5	CUAUTITLAN EDO DE MEX.	NO	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
6	COACALCO EDO DE MEX.	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
7	COALCOMAN MICH.	DESC.	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
8	TINJARO MICH.	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
9	TACAMBARO MICH.	SI	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
10	PINOTEPA NACIONAL OAX.	NO	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
11	* PINOTEPA NACIONAL OAX.	DESC.	INTENSIVO	+	+	+	-	+	+	-	+
12	* TECAMACHALCO PUE.	NO	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
13	* TLAXCALA TLAX.	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
14	MEDELLIN VER.	SI	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
15	NAUTLA VER.	DESC.	EXTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
16	SANTIAGO TUXTLA VER.	SI	EXTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+
17	* PETO YUC	NO	INTENSIVO	+	+	-	-	+	+	-	+

* VARIACION ANTIGENICA

CUADRO 6

PATRON DE REACTIVIDAD ANTICUERPOS MONOCLONALES
ANTI-NUCLEOCAPSIDE
OBTENIDAS DE ORIGEN HUMANO

No DE MUESTRA	PROCEDENCIA GEOGRAFICA	VACUNACION POSTEXPOSICION	ANTICUERPOS MONOCLONALES							
			1	2	3	4	5	6	7	8
CONTROL POSITIVO CVS			+	+	-	-	+	+	-	+
CONTROL NEGATIVO CNR			-	-	-	-	-	-	-	-
1	CULHUACAN D.F.	NO	+	+	-	-	+	+	-	+
2	NVA ATZACOALCO D.F.	NO	+	+	-	-	+	+	-	+
3	COATEPEC EDO DE MEX.	NO	+	+	-	-	+	+	-	+
4	ECATEPEC EDO DE MEX.	NO	+	+	-	-	+	+	-	+
5	*ECATEPEC EDO DE MEX.	NO	+	+	+	+	+	+	-	+

*VARIACION ANTIGENICA

CUADRO 7

PATRON DE REACTIVIDAD DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
ANTI-NUCLEOCAPSIDE
CON CEPAS PROVENIENTES DE DIFERENTES ORIGENES

No DE MUESTRA	ESPECIE	PROCEDENCIA GEOGRAFICA	VACUNACION	HABITO	ANTICUERPOS MONOCLONALES							
					1	2	3	4	5	6	7	8

TESTIGO POSITIVO	CVS				+	+	-	-	+	+	-	+
TESTIGO NEGATIVO	CNR				-	-	-	-	-	-	-	-

1	FELINO	CUAJIMALPA D.F.	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
2	FELINO	ROJO GOMEZ D.F.	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
3	FELINO	GOMEZ PALACIO DGO	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+
4	FELINO	HUETAMO MICH	NO	CALLEJEABA	+	+	-	-	+	+	-	+

1	*PORCINO	TLALPAN D.F.	NO	TRASPATIO	+	+	+	-	+	+	-	+
2	PORCINO	TLACOTEPEC PUE	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+

1	EQUINO	ESCUINTLA CHIS.	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
2	EQUINO	URUAPAN MICH	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+

1	CAPRINO	TLAXCALA TLAX.	NO	TRASPATIO	+	+	-	-	+	+	-	+
---	---------	----------------	----	-----------	---	---	---	---	---	---	---	---

1	VAMPIRO	TEJUPILCO EDO DE MEX	NO	SILVESTRE	+	+	-	-	+	+	-	+
---	---------	----------------------	----	-----------	---	---	---	---	---	---	---	---

* VARIACION ANTIGENICA

CUADRO 8

PATRON DE REACTIVIDAD OBTENIDO CON CEPAS QUE
PRESENTARON DIFERENCIAS ANTIGENICAS

PATRON DE REACTIVIDAD ANTICUERPOS MONOCLONALES								FRECUENCIA	ESPECIES EN LAS QUE SE DETECTO	PROCEDENCIA
1	2	3	4	5	6	7	8			
+	+	+	-	+	+	-	+	3/52	PERRO	CUAJIMALPA D.F.
									CERDO	TLALPAN D.F.
									BOVINO	PINOTEPA NACIONAL OAX.
+	+	-	-	+	-	-	+	1/52	BOVINO	TLAXCALA TLAX.
+	+	-	-	+	+	-	-	1/52	BOVINO	PETO YUCATAN.
+	+	-	-	+	+	+	+	1/52	BOVINO	TECAMACHALCO PUE.
+	+	+	+	+	+	-	+	1/52	HUMANO	ECATEPEC EDO DE MEX.

CUADRO 9

TITULACION VIRAL REALIZADA A LAS CEPAS QUE PRESENTARON
DIFERENCIAS ANTIGENICAS

ORIGEN DE LA CEPA	PROCEDENCIA GEOGRAFICA	PASE 1		PASE 2		PASE 3	
		A	B	A	B	A	B
PERRO	DISTRITO FEDERAL	10 ^{2.5}	(669.0 D.L.)	10 ^{2.37}	(939.5 D.L.)	10 ^{2.37}	(939.51 D.L.)
HUMANO	ESTADO DE MEXICO	10 ^{1.51}	(70.76 D.L.)	10 ^{1.6}	(77.82 D.L.)	N T	
PORCINO	DISTRITO FEDERAL	10 ^{2.59}	(770.9 D.L.)	10 ^{2.5}	(699.0 D.L.)	N T	
BOVINO	OAXACA	10 ^{1.25}	(39.79 D.L.)	N T		10 ^{1.25}	(67.51 D.L.)
BOVINO	TLAXCALA	10 ^{2.6}	(778.2 D.L.)	10 ^{2.7}	(886.5 D.L.)	10 ^{2.8}	(903.1 D.L.)
BOVINO	PUEBLA	10 ^{2.5}	(699.0 D.L.)	N T		N T	
BOVINO	YUCATAN	10 ^{1.26}	(44.72 D.L.)	10 ^{1.5}	(69.90 D.L.)	10 ^{1.75}	(67.51 D.L.)
BOVINO	MICHOACAN C	10 ^{4.6}	(77820 D.L.)	N T		N T	
VAMPIRO	ESTADO DE MEXICO C	10 ^{4.9}	(95420 D.L.)	N T		N T	

A. TITULOS EXPRESADOS EN EL DL RATON 50% / 0.03ML / IC

B. DOSIS LETALES

C. CEPAS PERTENECIENTES AL SEROTIPO 1.

NT. NO TRABAJADOS

CUADRO 10

RESULTADO DE NEUTRALIZACION CON AM
SEGUN EL CRITERIO DE CHARLTON Y COL. , 1982

AM	DILUCION	CONTROL POSITIVO VS	CEPA 1 CEPA ORIGEN HUMANO	CEPA 2 CEPA ORIGEN PERRO
AM 1	1:5	O	O	O
	1:25	X	O	O
	1:125	X	O	O
	1:625	X	O	O
AM 2	1:5	O	O	NT
	1:25	O	O	NT
	1:125	O	O	NT
	1:625	X	O	NT
AM 3	1:5	O	O	O
	1:25	O	O	O
	1:125	O	O	O
	1:625	O	X	O
AM 4	1:5	O	O	O
	1:25	O	O	O
	1:125	O	O	O
	1:625	X	X	X
AM 5	1:5	O	O	O
	1:25	O	O	O
	1:125	X	O	X
	1:625	X	X	X
TESTIGO NEGATIVO	1:5	O	O	O
	1:25	O	O	O
	1:125	O	O	X
	1:625	O	O	X

MAS DE TRES RATONES SOBREVIVIENTES A SEIS INOCULACIONES SE CONSIDERA NEUTRALIZADO O
MENOS DE TRES RATONES SOBREVIVIENTES A SEIS INOCULACIONES SE CONSIDERA NO NEUTRALIZADO X
NT NO TRABAJADO

ANEXO 1.

DATOS REFERENTES A LAS MUESTRAS. Para esta fase se tomaron los siguientes puntos:

Datos de la muestra de origen humano.

Edad - 1año; 1-4; 5-14; +45

Procedencia geográfica Colonia _____ Municipio _____
Estado _____

Con tratamiento post-exposición: si ___; no ___; desconocida ___

Datos de la muestra de origen animal.

Especie _____

Procedencia geográfica _____

Hábito

Canideos y felinos

Callejero: animal sin dueño conocido y que deambula libremente en la vía pública;

callejea: animal con dueño, que abandona el domicilio en forma libre aunque sea por tiempo limitado;

domiciliado: animal que permanece en la casa del dueño.

Otros animales domésticos (bovinos, porcinos, caprinos, equinos y asnos)

Intensivo: animales estabulados que se albergan en granjas (grandes, medianas o pequeñas);

Extensivo: especies que se encuentran en este tipo de sistema de producción;

Traspatio: animales que se encuentran en este tipo de sistema.

Silvestre (vampiros, zorros, coyotes, etc.).

Animal considerado no doméstico.

Vacunación antirrábica (incluidos animales de compañía, domésticos y salvajes)

si__ ; no__ ; desconocida__ .