



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA HUMORAL CONTRA EL
VIRUS DE LA RABIA, EN PERSONAL QUE LABORA EN
CENTROS DE ALTO RIESGO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

FABIOLA MURRIETA TÉLLEZ GIRÓN

ASESOR:
DRA. ELIZABETH LOZA RUBIO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2005

m344939



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Evaluación de la respuesta humoral contra el virus de
la Rabia, en el personal que labora en Centros de alto
riesgo.
que presenta la pasante: Fabiola Murrieta Téllez Girón
con número de cuenta: 9754344-2 para obtener el título de :
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 3 de Noviembre de 2004

PRESIDENTE	<u>M.C. Raúl Arturo Mar Cruz</u>	
VOCAL	<u>M.C. José Antonio Licea Vega</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Elizabeth Loza Rubio</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MVZ. Carlos Javier González López</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MVZ. Jorge Muñoz Muñoz</u>	

DEDICATORIA

La palabra "Tesis" se dice y escribe rápido;
otros la ven tan solo como un mero trámite.

Sin embargo su contexto y desarrollo
nos marca de por vida.

Pasando de ser tan solo un ciudadano
a un "Profesionista"

palabra rimbombante que nos confiere
un título frente a la sociedad.

Sin embargo no hay que olvidar que este título
se engrandece alimentando al intelecto,
y aplicando dicho conocimiento
para el crecimiento propio y del mundo
que nos rodea siempre en pro del la vida.

La búsqueda del: qué?, porqué?, cómo?, donde?, etc;
nos hace diferentes y nos hace ver al mundo en otro ángulo,
transformándonos en verdaderos estudiantes.

Así que el mérito al estudio es un regalo
impalpable, terrenal y de gran valor
que me ha conferido Dios

y la Máxima Casa de Estudios,
por que gracias a ellos, a mi empeño y apoyo
de seres muy cercanos a mi corazón
yo he llegado hasta aquí y aspiro a más.

Fabiola Murrieta Téllez Girón, 2005.

RECONOCIMIENTOS

En recuerdo al cariño de mi padre César Augusto Murrieta Cabrera y un enorme agradecimiento a mi madre Guillermina Téllez Girón Soto por su incondicional amor, apoyo moral y económico; que siempre me ha brindado.

Un especial reconocimiento y agradecimiento al INIFAP en especial al: Dr. Ricardo Flores Castro y la Dra. Elizabeth Loza Rubio, quienes con confianza me abrieron las puertas de esta institución y permitieron el desarrollo de esta tesis. A los compañeros y amigos que conocí en este lugar, de quienes pude aprender y sentir confianza como la Dra. Elizabeth, Lety, Edith, Lupita y Adrián.

Un reconocimiento al Jefe de la Jurisdicción Sanitaria de Cuautitlán: la Dra. Lidia Reyes Rosas por su autorización y apoyo para obtener las muestras de suero de su personal previamente vacunado contra Rabia.

Un agradecimiento al apoyo que me brindo en la parte estadística mi coasesor de tesis el Dr. Benito López Baños. Y otro agradecimiento más al personal que labora en los cuatro Centros de Alto Riesgo que donaron su suero; ya que sin ellos esta tesis no se hubiese podido desarrollar.

A los seres más queridos de mi vida, que me han acompañado y ayudado en momentos gratos y no gratos durante el desarrollo de mi carrera y de mi tesis: Dios, mi mamá, mis hermanos (Marina, Aarón y César), mis amigos Yadira Guzmán, Zitllalli Q. Hernández, Dinorah Muro, Rocío Resendiz, Juan Antonio Gómez, Alejandro E. García, Blanca Cardenti, Alejandro Gante, David Rivas, Ricardo Salazar, Edwin V. Mora, Fabiola Morales, Claudia V. Hernández, Sandra L. Ortiz, Mayté Pérez, Claudia Pillado, Tamara Cuervo; y mil disculpas si olvido nombrar a alguien más.

MIL GRACIAS POR TODO.

INDICE:

1. Resumen.....	pág. 1
2. Introducción.....	pág.2
2.1 Historia de la Rabia.....	pág. 3
2.2 Generalidades del virus de la Rabia.....	pág.14
2.2.1 Periodo de incubación.....	pág.17
2.3 Patogenia del virus de la Rabia.....	pág.18
2.3.1 Daño Hispatológico.....	pág.20
2.3.2 Respuesta Inmunológica.....	pág.21
2.4 Signología Clínica de la Rabia en humanos.....	pág.36
2.5 Diagnóstico Diferencial de la Rabia en humanos.....	pág.40
2.6 Diagnóstico de Laboratorio de la Rabia en humanos.....	pág.43
2.6.1 Diagnóstico Antemortem.....	pág.43
2.6.2 Diagnóstico Postmortem.....	pág.46
2.7 Vacunas de uso humano contra la Rabia.....	pág.49
2.8 Tratamiento contra la Rabia.....	pág.58
2.8.1 Pruebas serológicas post-vacunación.....	pág.65
2.9 Prevención, Control y Erradicación de la Rabia.....	pág.67

3. Objetivos.....	pág.69
4. Hipótesis.....	pág.70
5. Márcos teórico.....	pág.71
5.1 La Rabia en México.....	pág.71
5.2 Salud Pública	pág.75
5.3 Personal de alto riesgo.....	pág.77
5.4 Jurisdicción Sanitaria Cuautitlán.....	pág.80
6. Materiales	pág.83
7. Métodos.....	pág.84
7.1 Prueba de RFFIT.....	pág.84
7.1.1 Método para calcular los resultados de la prueba de RFFIT.....	pág.87
7.2. Prueba de seroneutralización en placa de 96 pozos...	pág.89
7.2.1 Método para calcular los resultados de la prueba de SN.....	pág.93
7.3 Estudio Estadístico.....	pág.95

8. Resultados.....	pág.96
9. Discusión.....	pág.103
10. Conclusiones.....	pág.110
10.1 Recomendaciones.....	pág.111
11. Referencias	pág.112
ANEXO 1	pág.120
ANEXO 2	pág.121
ANEXO 3	pág.124

1. RESUMEN:

El objetivo de esta tesis fue titular 40 muestras de suero pertenecientes a personal vacunado contra rabia que labora en cuatro Centros de alto riesgo, que son: Antirrábico de Cuautitlán, Antirrábico de Cuautitlán Izcalli, Antirrábico de Tultepec y el laboratorio del Proyecto de Rabia del Centro Nacional de Microbiología Animal (CENID-MA) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Los sueros se trabajaron en el laboratorio de CENID-MA mediante dos pruebas: RFFIT (prueba rápida de inhibición focos fluorescentes) y prueba de SN (seroneutralización) en placa. Los resultados obtenidos en UI(Unidades Internacionales)/ml se sometieron a "Correlación de Pearson" y "Correlación de Spearman", tomando como variables: resultados de RFFIT, resultados de SN en placa, edad, sexo, tiempo post- vacunación y lugar donde laboran.

Los 40 sueros estudiados presentaron más de 0.5 UI/ml, que representa el título protector que recomienda la OMS. Las correlaciones verdaderas encontradas fueron: los resultados de RFFIT con resultados de SN, los resultados de RFFIT con la variable sexo, los resultados de SN con la variable sexo y los resultados de RFFIT con la variable tiempo post- vacunación.

Se concluye que el personal que labora en estos Centros de alto riesgo se encontró protegido ante una exposición accidental frente al virus de la rabia. Se recomienda que todos los trabajadores sujetos a alto riesgo sean vacunados y posteriormente conozcan su título de anticuerpos.

2. INTRODUCCIÓN:

La rabia es una enfermedad mortal que afecta a animales de sangre caliente, causada por un virus que se caracteriza por ser neurotrópico. Esta enfermedad produce una encefalitis vírica aguda mortal, es considerada como una de las 10 enfermedades infecciosas que producen mayor número de muertes cada año a nivel mundial (Meslin, 1996; Jackson & Wunner, 2002; Chrisman, 1997; Loza-Rubio, 2003).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada 10 o 15 minutos alguien muere por su causa. Cada hora mil personas reciben tratamiento antirrábico. En total se calcula que anualmente mueren en el mundo entre 40 y 70 mil seres humanos. Solo en África hay entre 5 y 15 mil muertes al año, y 500 mil individuos infectados. En Asia, las cifras señalan entre 35 y 55 mil muertos y 7 millones bajo atención médica (Loza-Rubio y Gómez Lim 2004).

El virus de la rabia se encuentra difundido en todo el planeta y ataca a los mamíferos domésticos y salvajes, incluyendo al hombre. El microorganismo se encuentra principalmente en la saliva de los animales infectados y se inocula al hombre cuando éstos lo atacan y provocan en él alguna lesión y/o cortada en la piel (Acha y Szyfres, 2001).

Los principales transmisores de la enfermedad son las especies carnívoras de una gran cantidad de países. Entre ellos están los perros y animales silvestres como los lobos y los zorros. Los quirópteros como los "vampiros" o murciélagos hematófagos, constituyen en muchos lugares un serio peligro porque muerden al ganado, transmitiéndoles al virus de la rabia; lo cual les ocasiona la muerte y en consecuencia, provocan pérdidas a la ganadería (Acha y Szyfres, 2001; SSA, 2001).

2.1 HISTORIA DE LA RABIA

La Rabia tiene una larga e interesante historia. Debido a su cuadro clínico tan impresionante, esta enfermedad ha sido ampliamente descrita, tanto por los grandes historiadores de la antigüedad como por la literatura médica en las distintas épocas, que citan aspectos de su transmisibilidad y gravedad (SSA, 1999; Schneider et al, 1994).

En imágenes sobre piedra en cavernas de Europa de hace aproximadamente 50,000 años, se representan hombres y perros en cacerías, y también perros con la forma de "perros rábidos". En aquellos tiempos, las enfermedades eran consideradas de "origen divino" y algunos las relacionaban con maldiciones provenientes de los demonios. Las interpretaciones de las enfermedades eran vistas de diferentes maneras en cada pueblo antiguo: los asirios, egipcios, caldeos, hebreos y otros pueblos, creían que las enfermedades eran de carácter religioso, y los chinos e hindúes, la enfermedad era vista como un desequilibrio entre los elementos que componían a los organismos humanos (SSA, 1999; Schneider et al, 1994; Sánchez, 2002).

Tres mil años antes de Jesucristo ya se encuentra el origen de la palabra "rabia" en la lengua sánscrita, donde "*Rabhas*" significa "agredir o hacer violencia" y se refiere al período Védico de la India (30 siglos a.C.) cuando al Dios de la muerte se le describió como a un perro. La palabra griega "*lyssa*" viene de la raíz "*lud*" que significa: "violento" y/o "locura", adjetivos que se aplican tanto en el hombre como en los animales con la enfermedad (SSA, 1999; Loza-Rubio, 2003; Ortiz y Roy, 2002).

La primera descripción de la enfermedad se remonta al siglo XXIII a.C., en el Código Eshunna en Babilonia. Desde la antigüedad ya se había establecido la relación entre la rabia humana y la rabia de los animales, especialmente de los perros. En el antiguo Egipto, el Dios Sirius fue hecho a imagen de un perro furioso, debido a que la rabia parecía ser prevalente en el último verano (Otero, 2003; Loza-Rubio, 2003).

En la mitología griega, Homero se refiere a la rabia en la Iliada cuando menciona que "Sirius", la constelación perro de Orión, ejerce una influencia maligna sobre la humanidad. La estrella "Perro Sirio" se asociaba con perros rabiosos, en pueblos del Mediterráneo Oriental, Egipto y Roma. También escribe Homero que el invencible Héctor era un "perro rabioso". Mientras que los griegos antiguos tenían a la diosa Artemisa como sanadora de la rabia y al dios Artiste, hijo de Apolo, quien era especial para combatir el efecto de la rabia. En la Grecia también era reconocida la cauterización de las heridas causadas por animales rabiosos, tratamiento que se mantuvo hasta el descubrimiento de las vacunas (Otero, 2003, Loza-Rubio et al, 1998b; Loza-Rubio, 2003; Schneider et al, 1994).

El filósofo griego Aristóteles en el siglo IV a.C. , en su tratado llamado *"Historia Natural de los animales"*, mencionó: *"los perros suelen sufrir de rabia, la cual los pone en el estado de furia y cuando están en tal condición, todos los animales a los que muerden son afectados por la enfermedad"*.

Hipócrates, el médico más destacado de la antigüedad en el año 460 a.C., refirió algunas de sus características en el humano y recomendó determinados medicamentos como medida preventiva. En aquellos tiempos en Roma, Plinio y Ovidio creían que otra causa de la rabia era el llamado "gusano de la lengua del perro", y como tratamiento se cortaba el freno de la lengua del perro y se extirpaba un pliegue en el cual pudiera estar el "gusano", esta teoría permaneció hasta Pasteur (SSA, 1999; Ortiz y Roy, 2002; Schneider et al, 1994).

En el siglo I d.C Cornelio Celsus, que siguió la escuela de Hipócrates, reconoció que la mordedura de los perros y la saliva de cualquier animal enfermo, era peligrosa para el hombre; hizo por primera vez una descripción de la enfermedad, a la cual nombraría por primera vez como "hidrofobia"; pregonizó el lavado y la cauterización de las heridas hechas por el animal rábido como medio para evitarla y afirmó que cuando se presentaban los síntomas de esta enfermedad, no hay posibilidades de curarla y termina siempre con la muerte. La "Sucrutasamitá" (siglo I) es el primer texto médico sobre la rabia en la India (SSA, 1999, Ortiz y Roy, 2002; Loza-Rubio, 2003; Schneider et al, 1994).

Celio Aureliano, en su tratado sobre las enfermedades agudas escrito en el siglo II d.C., trató extensamente esta enfermedad (SSA, 1999; Ortiz y Roy, 2002).

En la Edad Media, con el crecimiento poblacional de las ciudades medievales y con los problemas sanitarios que sufrían, surgieron varias epidemias como la lepra, varicela, difteria, tuberculosis, sarampión y la rabia que marcaba su presencia con invasiones de animales rabiosos en los pueblos y villas. A pesar de seguir los principios hipocráticos, los problemas de salud eran considerados como causas mágicas y religiosas; y en este período el gran protector de la rabia fue San Humberto. El hecho de que San Humberto curara la rabia era una discusión entre las instituciones científicas de la época, como la "Sorbone" y la Iglesia Católica. Con base en la protección de San Humberto, se utilizaba la aplicación de un hierro caliente en los perros mordidos por otros rabiosos. Los sacerdotes desprendían una partícula de hilo de la estola de San Humberto y la introducían bajo la piel de la frente de la persona mordida, y continuaban con la cauterización de las heridas, conjuntamente con otras medidas como la aplicación de cataplasmas a bases de extractos vegetales (Schneider et al, 1994).

Los médicos mahometanos Rhazes en el siglo IX y Avicena en el siglo XI, también la mencionan en sus escritos donde describen conceptos importantes sobre la hidrofobia (SSA, 1999).

A mediados del siglo XVII Girolamo Francastoro, sabio italiano nacido en Verona, fue autor de una famosa obra llamada "*De Res Contagione*", donde describió síntomas clínicos de la enfermedad que había podido observar en numerosos pacientes y sus modos de contaminación. Afirmó que la rabia no podía ser contraída por ninguna clase de contacto, ni por medio de fomites ni a la distancia, afirmando que "*solo se contrae la enfermedad cuando la piel ha sido rota por la mordedura de un perro y de la cual salga sangre*", mencionando también que: "*todo perro mordido por un rábido adquiere siempre la enfermedad, lo cual sucede igualmente en el hombre*" (SSA, 1999; Ortiz y Roy, 2002; Universidad Veracruzana, 2004).

En 1500, España estaba asolada por rabia canina, también la ciudad de Paris en 1614; y así casi toda la Europa central (Schneider et al, 1994).

En Mesoamérica, la existencia del "*canis familiaris*", o sea, el perro se cree inició desde hace 8 mil años; en el período precolombino éste servía como compañía y alimento, representado a través de la figura del "*Itzcuintli*" o como imagen ceremonial, dios o emisario de la muerte a través de la figura de "*Xolotl*", que creían acompañaba al difunto en su viaje al inframundo. Pero el describir los problemas del exceso de población canina y de la Rabia canina en México obliga a remontarse al año de 1519 cuando vinieron los primeros perros de presa de razas hispánicas, con la armada de Cortés a México; los cuales se reprodujeron con los perros nativos. Y como consecuencia de este mestizaje surgieron canes, bulliciosos y agresivos, callejeros y cimarrones; los cuales aumentaron en número rápidamente generándose así una sobrepoblación canina, y la aparición de casos de la rabia en la Nueva España. Como medida de control, en el año de 1581, el

cabildo de México ordenó reducirlos mediante el sacrificio y multando a los dueños con 10 pesos, ya que en algunos casos la agresión del animal provocó la muerte de las personas (SSA, 2001).

En la Cultura Maya, se había deificado al Dios Murciélago, que lo relacionaban con la muerte de hombres y animales, y aparentemente no hay referencias que indiquen la existencia de Rabia en las diferentes culturas de América Prehispánica. Sin embargo, como teoría contraria, algunos datos históricos señalan que la rabia ya existía en América, y que los vampiros, cuya presencia se detectó en zonas del nuevo continente, eran causa de transmisión del mal, según relatos de las crónicas de los conquistadores, en 1514 y 1527, principalmente en tierras mexicanas (SSA, 1999; Sánchez, 2002).

Progresivamente la rabia se fue difundiendo a todo el continente. En el año 1709, se registra la primera epidemia de Rabia en los perros callejeros de la ciudad de México y otras ciudades vecinas como Puebla, afectando también a animales domésticos, animales salvajes y a los humanos. A fines de 1719 aparecieron víctimas humanas en las Antillas, así como en la Isla de Barbados en 1741. También en islas de Las Antillas Menores colonizadas en ese año por los ingleses (SSA, 2001).

Con el surgimiento del brote de rabia canina en la ciudad de Londres en 1752-1762, fue ordenado el sacrificio de todos los perros callejeros, que incluyó la paga de una recompensa por animal muerto, originando una masacre de éstos animales. Esta práctica también utilizada en Madrid, mataron 900 perros en un solo día (Schneider et al, 1994).

En 1770, Van Switen , describió la forma paralítica de la enfermedad (Ortiz y Roy, 2002).

En Perú, en 1803, se desató una violenta epidemia de rabia que causó la muerte a 42 personas en la ciudad de Ica, localizada al oeste de ese país (Acha y Szyfres, 2001).

Europa, sufrió algunas epizootias de rabia ocasionada por zorros en 1803 y hasta finales de 1830, siendo éstos los últimos difusores del virus en el sur de Alemania y Suiza. En este período era muy común matar a los enfermos o sospechosos de rabia, llegando al punto de ser propuesto en Francia en 1810, una ley concebida en estos términos: *"Bajo pena de muerte, prohíbese estrangular, asfixiar, desangrar por las cuatro extremidades o matar de cualquier otra manera a las personas atacadas de rabia, hidrofobia o cualquier otra enfermedad que provoque accesos, convulsiones o locura furiosa. Correspondiente a la policía y a la familia de las víctimas, tomar precauciones para proteger la salud pública y la particular"* (Acha y Szyfres, 2001; Schneider et al, 1994).

En 1804, Zinke en Alemania demostró experimentalmente la virulencia de la saliva de los perros rabidos (Loza-Rubio, 2003, Schneider et al, 1994).

El año de 1821, Francois Magendie y Gilbert Bréchet identificaron la rabia humana con la canina reproduciendo la enfermedad en un perro, inoculándole la saliva de una persona enferma (Ortiz y Roy, 2002; Loza-Rubio, 2003).

En 1879, un médico chileno llamado Pedro Videla sugería: *"el tratamiento de la rabia se divide en: 1) preventivo donde se usan lociones avinagradas sobre la herida con ventosas secas y compresión circular en el área que atraiga e impida al virus rábico avanzar al interior del cuerpo; y con los cáusticos como el hierro enrojecido, los ácidos fuertes, el cloruro de zinc, nitrato de plata, etc. para eliminar al virus. Y 2) curativo con un estupefaciente (dantura stramonium) que calma y disminuye la acción excitante de los centros nerviosos"* Sin embargo, en su propio

estudio el mismo observó que por medio de éste medicamento y otros narcóticos como el opio y el coral no se curaban los pacientes, solo aliviaban temporalmente los síntomas más molestos de la enfermedad (Larval, 2003).

En 1879, Victor Galtier demostró la existencia del virus rábico en las glándulas salivales y la inoculó en conejos y ovinos. También comprobó la duración del período de incubación y su disminución a través de las sucesivas inoculaciones. Estos fueron antecedente fundamentales de investigaciones que se realizaron y sirvieron para llevar a buen puerto el desarrollo de un método de inmunización contra la rabia (Pérez, 2003).

Louis Pasteur en 1880 sugirió que el agente etiológico de la rabia no era una bacteria, sino un virus. En esta época muchos creían en la espontaneidad de las enfermedades, inclusive de la rabia; y Pasteur se postuló contra esta teoría, como podemos ver a través de una de sus cartas sobre la rabia donde mencionaba: *"Hasta hace poco, nuestros conocimientos sobre la rabia estaban mezclados por una cantidad de prejuicios. Se creía por ejemplo, que la rabia podía nacer espontáneamente e incluso se describían las causas ocasionales del mal. En las calles de ciertas ciudades, a menudo se colocaba a lo largo de los muros en verano, pequeños vasos de estaño llevando agua, para que los perros pudieran satisfacer su sed. Muchas personas pensaban que si se descuidaban estas precauciones, los animales estaban expuestos a contraer la rabia. No obstante, es un hecho que bajo cualquier condición fisiológica o patológica en que se coloque a un perro o cualquier otro animal, jamás se manifestará la rabia en este animal si no ha sido mordido o lamido por algún otro que tenga la rabia en el momento que se ha producido la herida; pero es preciso, dirán, que ¿habrá habido un primer animal con rabia ? Esta es una demanda que abre simplemente la cuestión del origen de todos los casos, cuestión absolutamente fuera del dominio de las investigaciones científicas. ¿De dónde viene el primer hombre? ¿de dónde salió el*

primer roble? Nadie lo sabe y es inútil discutir sobre misterios parecidos.” (Schneider et al, 1994).

En 1881, Pasteur comunicó a la Academia de Ciencias, haber encontrado que el virus de la rabia no está sólo en las glándulas salivales, ya que Roux, Chamberland y Thuillier que eran miembros del equipo de Louis Pasteur, demostraron que el Sistema Nervioso Central es el sitio primario de reproducción del virus de la rabia. Estos investigadores transmitieron la rabia mediante la inoculación submeníngea de conejos. Y en 1885, Pasteur muestra por primera vez el éxito de una vacuna contra la rabia ante la Academia Francesa de las Ciencias; publicando su famoso e histórico trabajo llamado: *“Método para prevenir la Rabia después de una mordedura”*. Desde el primer tratamiento en 1885, hasta el año de 1886, Pasteur ya había tratado 2.490 personas; dicho tratamiento tenía una mortalidad del 1 al 2 %, cuando era iniciado a tiempo. Debido a su éxito empezó a recibir donaciones de varias partes del mundo, con las cuales fue posible empezar la creación del Instituto Pasteur. Diez años después el Instituto tenía centros de investigación de varios países. Louis Pasteur no habló de diferencias antigénicas pero si fue el primero en establecer que había diferencias entre las cepas, denominándolas virus fijos y virus de la calle, realizando pruebas de protección cruzada (Schneider et al, 1994; Loza-Rubio et al, 1998b; Acha y Szyfres, 2001; Amasino et al, 2002).

En 1889, Di Vestea y Zagari inocularon el virus de la rabia en nervios como el isquiático y mediastínico, y mostraron como el virus primero cubría 3 áreas del nervio: perinervio, epinervio y epitelio perineural; y comenzaba su viaje, llamando a este fenómeno “translocación”. Y demostraron que este proceso podía ser interrumpido al seccionar el nervio. Dicho experimento después llevó a la conclusión de que dicha translocación del virus podía ser temporalmente bloqueada por anestésicos locales (Zuckerman et al, 2000).

En 1899, Babes y Lepp usaron suero hiperinmune antirrábico obtenido de caballos; pero hasta 1950, Koprowski y colaboradores investigaron el efecto del suero en el tratamiento antirrábico humano. Aplicaron suero a 29 víctimas agredidas por un oso en Irán y observaron una disminución considerable en el porcentaje de mortalidad en las personas tratadas. Así, la aplicación del suero conjuntamente con la vacuna para el tratamiento preventivo contra la rabia empezó a ser recomendado por el Comité de Expertos de la OMS a partir de 1973 (Kumate, 1993; Schneider et al, 1994).

En 1903, Negri descubrió los corpúsculos que llevan su nombre, describiéndolos como cuerpos de inclusión con caracteres tintoriales específicos en el citoplasma de las neuronas de perros, gatos y conejos experimentalmente infectados con el virus de la rabia. Descubriéndose así un método de diagnóstico en los animales muertos por ésta enfermedad. Identificó inmunológicamente el contenido de las inclusiones como ribonucleoproteínas del virus de la rabia; y por esta razón Negri indagaría que el agente era un protozoario, pero en el mismo año Remlinger mostró la naturaleza viral del agente por su calidad filtrante (Acha y Szyfres, 2001).

En 1905 se descubrió en Perú que el coyote es otro animal que puede transmitir la rabia. Se informa que en 1910, en México, por primera vez se presentaron casos de rabia en bovinos transmitida por murciélagos y otros animales silvestres. De 1911 a 1918, se registraron fuertes epizootias de rabia transmitida por la mordedura de murciélagos en el Brasil; de igual manera Paraguay, Argentina, Honduras, Isla Trinidad, Guatemala, Bolivia, Colombia, Panamá y México presentaron numerosos casos de rabia por mordeduras de murciélagos a mediados de la década de los veinte (Acha y Szyfres, 2001).

Kubes y Gallia en 1942 concluyeron que en Venezuela existían dos virus de rabia epizootiológicamente diferentes: el de origen canino y el de origen bovino (Loza-Rubio et al,1998b).

En el año de 1978, Wiktor y Koprowski por medio del método anticuerpos monoclonales (AM*) demostraron las diferencias antigénicas en la composición antigénica de diferentes tipos de virus fijos y en el año de 1980, detectaron las diferencias en virus de la calle aislados de seres humanos, afirmando que : *"Los virus relacionados con el rábico se diferencian por sus antígenos superficiales o glucoproteínicos mediante las pruebas de neutralización y de protección cruzada; también se emplean anticuerpos monoclonales dirigidos contra la nucleocápside"*. Con el empleo de paneles de AM contra la nucleocápside y la proteína G, se demostró la existencia de diferencias antigénicas en diversos aislamientos del virus de la rabia provenientes de América, Europa, Asia y África. Asimismo, se comprobó la diferenciación establecida por seroneutralización entre virus de rabia (serotipo 1) y los virus relacionados Lagos bat, Mokola y Duvenhage que representan a los serotipos 2, 3 y 4, respectivamente, y que han sido aislados exclusivamente en otros continentes diferentes al americano. Los Lyssavirus de murciélago europeo tipos 1 y 2 (EBL 1 y EBL 2) son transmitidos exclusivamente por quirópteros insectívoros en Europa y fueron descritos inicialmente como una variante de Duvenhage (Loza-Rubio, 1998^a; Loza-Rubio et al, 1998b).

(AM*) Los AM fueron producidos por vez primera por Kohler y Milstein en 1975, que obtuvieron el Premio Nobel de Medicina en 1984 por tal descubrimiento; donde consiguieron unir dos células y obtener un híbrido (Híbridoma) que presentaba características funcionales de ambas poblaciones celulares. Fusionaron un linfocito B de bazo de un ratón inmunizado con eritrocitos de oveja que producía anticuerpos contra un epítipo del eritrocito, con células de mieloma de un ratón que vivía de forma indefinida "in vitro" .Obtuvieron un híbrido que era capaz de segregar inmunoglobulinas frente al epítipo del eritrocito de oveja de forma permanente, ya que el híbridoma también había adquirido la capacidad de secreción de inmunoglobulinas del mieloma y su capacidad para vivir "in vitro". Es decir, consiguieron producir anticuerpos "in vitro" frente a un sólo determinante de una compleja estructura antigénica.

A partir de 1990, se desarrolló una metodología de transcripción inversa (ARN-ADN), “la reacción en cadena de la polimerasa” (PCR) para secuenciar y amplificar las regiones o genes de la rabia; con la finalidad de estudiar el grado de variación del genoma en diferentes aislamientos del virus de la rabia (Loza-Rubio 1998^a).

En México en el año de 1998 se publicaron los primeros estudios realizados para la caracterización del virus de la rabia aislado tanto en fauna doméstica como de fauna silvestre por medio de AM anti-nucleocapside, no detectándose similitudes con otros virus Europeos o Africanos. En el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) se determinó por primera vez de una manera científica, que en México solo se encuentra el serotipo/genotipo 1. También se describió por primera vez otros ciclos epidemiológicos en México, que no habían sido descritos previamente como son: la variante perro (ciclo terrestre) se descubrieron dos subvariantes, México I diseminada en todo el territorio mexicano y México II, encontrada en el Centro del país y Estado de México. Así en este mismo ciclo, pero en fauna silvestre se encontró un ciclo que circula en zorros y lince (México III), y dos ciclos en zorrillos, México IV y V, los cuales están presentes en el Noroeste y Centro del país respectivamente, y que se ha comprobado que afecta a animales y humanos (Loza-Rubio, 2003; Loza-Rubio et al, 1998b).

2.2 GENERALIDADES DEL VIRUS DE LA RABIA

Es una enfermedad infecto-transmisible, aguda y mortal; provocada por un virus que pertenece al (Acha y Szyfres, 2001; Loza-Rubio, 1998^a):

Orden: *Mononegavirales*

Familia: *Rhabdoviridae*

Género:

Lyssavirus

Actualmente se reconocen siete genotipos (Fraser, 1996; SSA, 1999; Badrane, 2001; Fooks, 2003; Guyatt, 2003; Arai, 2003; Kuzmin, 2003):

- **Genotipo 1:** *Clásico* (cepa CVS). Es el que con mayor frecuencia se ha aislado del hombre a nivel mundial.
- **Genotipo 2:** *Lagos bat* (LB), originariamente aislado de murciélagos en Nigeria, sin casos humanos.
- **Genotipo 3:** *Mokola* (MOK), aislado de roedores en Nigeria, con casos humanos en África.
- **Genotipo 4:** *Duvenhage* (DUV), aislado de murciélagos en Zimbabwe, con un caso humano en Sudáfrica.
- **Genotipo 5:** *Lissavirus europeo* (EBL-1), aislado de murciélagos, con un caso humano en Rusia.
- **Genotipo 6:** *Lissavirus europeo 2* (EBL-2), aislado de murciélagos, con un caso humano en Finlandia.
- **Genotipo 7:** *Lissavirus australiano* (ABV), aislado de murciélagos, sin casos humanos.

El virus de la rabia es un virus ARN envuelto, en forma de bala, su tamaño aproximado es de 75 nm de diámetro y 100-300 nm de largo; está constituido de ARN (2-3%), proteína (67-74%), lípidos (20-26%) y carbohidratos (3%), como componentes integrales de su estructura. Tiene dos antígenos principales: uno interno de naturaleza nucleoproteínica que es grupo específico, y el otro de superficie que es de composición glucoproteínica y responsable la producción de los anticuerpos neutralizantes. Su membrana externa esta formada por una doble envoltura fosfolipídica y en su interior presenta el ARN en espiral de polaridad negativa codificando 5 proteínas estructurales (Jackson y Wunner, 2002; Salyers y Witt, 2001; Acha y Szyfres, 2001).

Las cinco proteínas estructurales son:

1. La glicoproteína G que se encuentra localizada en la envoltura viral, es la única que sobresale de la membrana viral, es el más importante antígeno responsable de la inducción de anticuerpos virus neutralizantes y de la estimulación de los linfocitos T (López et al, 2002; Loza-Rubio, 1998^a; Amasino et al, 2002).
2. La proteína matriz M, que se encuentra por la cara interna de la membrana, y actúa como puente de unión entre la parte de la espículas de la glicoproteína que pasa por la membrana y la nucleocápside (Loza-Rubio, 1998a).
3. La nucleocápside N que conjuntamente con el ARN y las proteínas L y NS, forman un complejo activo que controla tanto la transcripción como la replicación (Loza-Rubio, 1998a).
4. La fosfoproteína también llamada NS que significa no estructural y cuyas moléculas se combinan con la proteína L para formar la polimerasa viral (Loza-Rubio, 1998a).
5. La proteína L que es la polimerasa viral (Loza-Rubio, 1998a).

En este caso, la polaridad negativa del ARN del virión indica que el genoma es incapaz de ser traducido en proteínas vírales por la maquinaria celular. Consecuentemente un paso preliminar de transcripción autónomo es necesario para producir la banda positiva complementaria del ARN mensajero, que sucede tan pronto como la ribonucleocápside es liberada en el citoplasma. Este paso es asegurado por una enzima codificada genéticamente, la ARN polimerasa ARN dependiente (Meslin, 1996).

Dentro de los virus rábicos "clásicos" debe señalarse la distinción entre el "virus calle" y el "virus fijo". La denominación de "virus calle" se refiere al de reciente aislamiento de animales y que no ha sufrido modificaciones en el laboratorio. Las cepas de este virus se caracterizan por un período muy variable de incubación, que a veces es muy prolongado, y por su capacidad de invadir las glándulas salivales. En cambio, la denominación de "virus fijo" se refiere a cepas adaptadas a animales de laboratorio por pases intracerebrales en serie, que tiene un período de incubación corto, de solo 4 a 6 días, y no invaden las glándulas salivales (Acha y Szyfres, 2001).

El virus es muy sensible al éter, etanol, cloroformo, fenol, formol, formalina, bicloruro de mercurio, preparados yodados, compuestos cuaternarios de amonio, álcalis, ácidos, acetona y a los disolventes de las grasas como soluciones de jabón. Se inactiva a 37°C y es parcialmente resistente a la desecación, a la congelación y descongelaciones repetidas, y a todos los antibióticos y quimioteráuticos de uso en medicina humana y animal. Su viabilidad en el medio ambiente es baja ya que solo se transmite por contacto directo, pero en otras condiciones puede que dure un poco más en el medio ambiente; como es el caso de una cueva de murciélagos donde la humedad es elevada y las concentraciones del virus son mayores, y aquí su transmisión puede ser aerosoles por vía nasal y/o mucosas (Morilla, 1991).

2.2.1 PERIODO DE INCUBACIÓN

El periodo de incubación del virus de la rabia es incierto, puede ser de un corto tiempo de 10 a 20 días en un cuadro de tipo agudo donde los signos clínicos son poco evidentes; pero puede extenderse a 6 meses o años. Los factores que van a dictar la severidad de esta enfermedad van a ser: dosis del virus inoculado, ruta y severidad de la exposición, localización, inmunodeficiencia del infectado y variante del virus (Salyers & Witt, 2001; Amasino et al, 2002).

El periodo de incubación en los niños tiende a ser menor que el de los adultos; debido a que estos pacientes son agredidos con más severidad y frecuencia en la cara (Zuckerman et al, 2000).

El siguiente cuadro indica los casos de rabia humana según periodos de incubación en días entre 1995-1998 en los Estados Unidos Mexicanos, donde sobresalen los periodos de 31-60 días (SSA, 1999 y 2001)

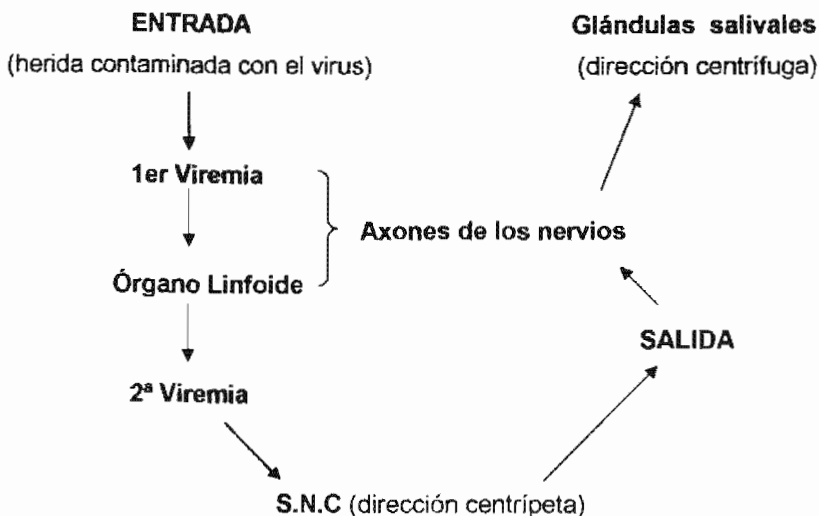
DÍAS	CASOS	PORCENTAJE
< 10	5	5
11 a 30	29	31
31-60	30	35
61-90	7	7
91-120	4	4
121-150	2	2
151 y +	4	4
Se ignora	11	12
TOTAL	92	100%

2.3 PATOGENIA DEL VIRUS DE LA RABIA

Patogenicidad se define como la capacidad potencial de un agente para producir lesiones específicas o grado con que un agente debilita a su hospedador (Corey, 1992).

La rabia es transmitida al hombre por contacto, generalmente por mordeduras o lameduras de animales con capacidad de transmitir el virus, en áreas de la piel sin continuidad; en heridas o a través de las mucosas intactas como la conjuntiva ocular. También se han reportado casos de personas que adquirieron la infección por la inhalación de partículas virales a manera de aerosol y en transplantes de córneas en humanos (Corey, 1992; SSA, 1999).

Formas de diseminación :



La vía de transporte más usual es a través mordeduras en la piel, principalmente los dedos y regiones de la cara son las regiones que tienen potencialmente más sensibilidad a la infección e inervación; una vez que se infecta el tejido subyacente, el virus se replica en el sitio de la herida. Llegando a terminales nerviosas más cercanas, comienza un viaje en forma centrípeta en el interior de los nervios periféricos; infectan los ganglios espinales más próximos donde es factible que se repliquen nuevamente, e invaden la médula espinal, por la cual ascienden rápidamente al cerebro por medio de un proceso llamado septineuritis, donde se vuelven a replicar en los tejidos de la sustancia gris, distribuyéndose y localizándose de manera irregular, principalmente en el hipocampo (astas de Ammon), mesencéfalo, tálamo y médula. El daño a las neuronas motoras causa lesiones progresivas que producen la parálisis flácida. Tras su replicación este viaja vía centrifuga y a través de los axones de los nervios y células de Schwann de todos los nervios del cuerpo llegando a la mayoría de los órganos y tejidos periféricos como son la piel, el músculo y ciertos órganos de predilección como glándulas salivales (SSA, 1999, Corey, 1992).

En las glándulas salivales se han comprobado títulos víricos más altos que en el cerebro y también se han hallado títulos altos en los pulmones; esto indicaría que el agente puede multiplicarse fuera del SNC. Se ha aislado o detectado virus en diferentes órganos y tejidos, tales como las glándulas suprarrenales, grasa parda (glándula interescapular) de los murciélagos, riñones, vejiga ovarios, testículos, glándulas sebáceas, células germinativas de los bulbos pilosos, córnea, papilas de la lengua, pared intestinal y otros (Acha y Szyfres, 2001).

Sin embargo, conviene tener en cuenta que la distribución del virus no es uniforme y la frecuencia de la infección de diferentes órganos es variable; además que el virus de la rabia no puede infectar a las personas que tienen contacto con las heces, la sangre, la orina o la piel intacta del individuo infectado (Acha y Szyfres, 2001; MINSAP, 2002).

Este virus causa una encefalitis y mielitis, las cuales se pueden resumir en un cuadro de poliencefalomielitis no supurativa difusa y ganglioneuritis. La infección rábica directamente al Sistema Nervioso Central, es un ejemplo de baja infectividad con alta patogenicidad y virulencia; donde la virulencia se define como el grado de severidad de una reacción patológica que un agente es capaz de producir (SSA, 1999).

2.3.1 DAÑO HISTOPATOLÓGICO

El virus de la rabia se replica por brote de las membranas celulares del huésped y la nucleocápside viral se desarrolla del citoplasma. Las partículas viales se pueden formar en la superficie celular pero lo más común es que broten de las membranas intracitoplasmáticas. Las partículas libres infectan células nuevas o adyacentes por fusión de su envoltura con la membrana celular del huésped permitiendo la entrada directa del material genético del virus (SSA, 1999).

La lesión en el cerebro se presenta como una destrucción de las neuronas; los cambios histopatológicos consisten en degeneración y necrosis neuronal, con desmielinización de los cilindroejes de la sustancia blanca e infiltración de células mononucleares como linfocitos, polimorfonucleares y eritrocitos, y hay una hiperemia perivascular. Un hallazgo frecuente de lesión histopatológica por rabia lo constituyen los llamados cuerpos de Negri, que son inclusiones intracitoplásmicas en las células nerviosas, de aproximadamente 2 a 10 mm de diámetro, de forma redonda u oval, acidófilos y que se observan con mayor abundancia en hipocampo (Asta de Ammon), en los ganglios basales y médula espinal. Dichos corpúsculos corresponden a conglomerados de gran cantidad de

proteínas del virus rábico. Estos cambios histológicos también se relacionan con la duración de la enfermedad ya que cuando la muerte se presenta rápidamente, suelen ser mínimos (López et al, 2002; SSA, 1999).

2.3.2 RESPUESTA INMUNOLÓGICA

En la antigua Roma se les llamaban inmunes a todas aquellas personas que estaban exentas del pago de contribuciones; pero actualmente definimos a la "*inmunidad*" como el estado de resistencia asociado con la presencia de anticuerpos que ejercen una acción determinada sobre microorganismos, relacionados con alguna enfermedad específica o sobre sus toxinas (Buckley, 1998).

La "*respuesta inmune*" se define como el conjunto de mecanismos de defensa eficaces, contra uno o muchos agentes infecciosos de diferentes formas, tamaños, composiciones y caracteres agresivos que existen. La protección del cuerpo contra un microorganismo (virus, bacterias, hongos, etc), proviene de un complejo sistema de mecanismos que se superponen e interrelacionan de modo que puedan en conjunto destruir o controlar a casi cualquier invasor (Buckley, 1998; Tizard, 2000).

Los mecanismos de defensa se clasifican en dos tipos:

- 1) La inmunidad innata
- 2) La inmunidad específica.

La inmunidad innata, se divide en:

a) Defensas físicas y químicas.

Los mecanismos físicos consisten en el proceso cicatrización rápida en la piel, de auto limpieza, como la tos, el estornudo y el flujo de moco en las vías respiratorias, el vómito y diarreas en el tubo digestivo, la presencia de la flora normal en los epitelios, etc (Pastoret, 1998; Tizard, 2000).

Los mecanismos químicos actúan por medio de enzimas que digieren las paredes celulares y proteínas unidas a carbohidratos que cubren a de los microorganismos. También las partículas invasoras y restos de células infectadas son destruidos por medio de productos tóxicos como los iones de haluros (Cl, Br, I) (Pastoret, 1998; Tizard, 2000).

b) Factores moleculares, como son el interferón (INF), el sistema complemento, la proteína C reactiva, etc.

Los INF tipo I son una familia de cinco glucoproteínas afines secretadas por células infectadas por virus. Inhiben la multiplicación de los virus al interferir en la síntesis del RNA y las proteínas virales. También, las células infectadas y dañadas por un virus sintetizan IFN y lo secretan al líquido extracelular, donde se fija a receptores específicos sobre células vecinas no infectadas creando un cordón de células no infectables alrededor del sitio de la infección viral, lo que restringe su diseminación; y actúa como factor activador de

macrófagos y modulador de los linfocitos NK (Tizard, 2000; Anderem & Underhill, 1999; Jackson & Wunner, 2002, Mackay & Fred, 2001).

El sistema complemento es un sistema bioquímico complejo de múltiples componentes que une de manera covalente proteínas específicas a la superficie microbiana para destruirla (Tizard, 2000).

La proteína C reactiva es un polímero que se une a una molécula presente en todas las membranas celulares (fosfatidilcolina) como los linfocitos activados, los neutrófilos para estimular la fagocitosis, los tejidos dañados activando al sistema complemento y a los microorganismos invasores para acelerar su destrucción (Tizard, 2000).

- c) Mecanismos celulares, se concentran en la inflamación causada por cambios locales con incremento de flujo sanguíneo y la acumulación local de neutrófilos, monocitos, células NK, etc; capaces de atacar y destruir a los invasores. (Pastoret, 1998).

En la médula ósea existe la denominada célula madre pluripotente, de la cual se van a derivar la célula madre mieloide y la célula madre linfoide. De la célula madre mieloide surgen los eritrocitos, las plaquetas, los monocitos, los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos. De la célula madre linfoide se forman los linfocitos B, los linfocitos T y las células NK (Tizard, 2000).

Componentes del sistema del complemento y los anticuerpos preparan al invasor para ser fagocitado por los neutrófilos, por medio de cuatro etapas definidas como quimiotaxis, adhesión, ingestión y digestión. Así los neutrófilos atacan y destruyen microorganismos invasores; y en determinadas circunstancias pueden activarse bajo la influencia del interferón. (Pastoret, 1998; Tizard, 2000).

En la médula ósea se derivan células llamadas monoblastos que se transforman en promonocitos y estos a su vez en monocitos que entran en la corriente sanguínea y circulan durante unos tres días antes de ingresar en los tejidos y transformarse en macrófagos maduros en los tejidos. Los macrófagos sintetizan y secretan moléculas que amplifican la respuesta inmunitaria específica como enzimas e interleucinas (IL), controlan la inflamación, contribuyen directamente a la reparación del daño tisular mediante la eliminación de tejido muerto o en proceso de morir y tejido dañado. Los macrófagos maduros que se encuentran en el tejido conectivo reciben el nombre de histiocitos; como los presentes en el cerebro que se denominan microglía, que son células que tienen núcleos en forma de bastón y apéndices citoplasmáticos muy largos, las cuales desaparecen cuando la célula es estimulada y activada en caso de lesiones titulares (Pastoret, 1998; Anderem & Underhill, 1999; Jackson & Wunner, 2002).

Cuando hay infección, los macrófagos al tener contacto con los microorganismos liberan IL-1 en la circulación y llega hasta el cerebro produciendo fiebre, letargo, malestar, falta de apetito y en las células musculares moviliza aminoácidos para sintetizar anticuerpos en el hígado (Tizard, 2000).

Sin embargo, estos macrófagos aparte de fagocitar y destruir a las células infectadas procesan pequeños fragmentos antigénicos, y los colocan sobre la superficie de la célula huésped y si hay reacción contra ese antígeno una subpoblación de linfocitos T, denominadas células T de ayuda o cooperadoras "Th" (helper) principalmente Th1 y Th2, reconocerán al antígeno y se fijará a las denominadas moléculas del "complejo mayor de histocompatibilidad" (CMH) clase

ll ubicadas sobre la superficie de los macrófagos, y producirán diversos factores solubles denominados citocinas. Como algunas citocinas de las células T que ayudan a las células B a elaborar anticuerpos u otras citocinas como el interferón (α IFN) que actúa como factor activador de macrófagos (Pastoret, 1998; Anderem & Underhill, 1999; Jackson & Wunner, 2002).

Las células asesinas naturales "NK" (Natural Killer) son linfocitos que producen IL-2 e INF- γ . Y su tarea es destruir a las células infectadas por activación de enzimas proteolíticas que van directamente al DNA de las células para producir "apoptosis" (muerte celular programada), y así eliminar los antígenos endógenos que se produjeron en ella en el caso de infecciones virales (Tizard, 2000; Anderem & Underhill, 1999; Jackson & Wunner, 2002; Desmézieres et al, 1999).

En casos de rabia humana, los laboratorios reportan perfiles hemáticos de leucocitosis con pleomorfismo de hasta 10,000 a 30,000 por mm³ y un 6-8% de monocitos atípicos; sobre todo en las primeras 24 hrs. después de la agresión. Esto representa la respuesta del huésped tratando de destruir a las células infectadas por el virus antes de que este comience a replicarse. En este caso, los linfocitos NK son células que tienen un espectro limitado que puede amplificar administrando suero hiperinmune contra la rabia infiltrado alrededor de la(s) lesión(es). En consecuencia, los anticuerpos acercarán a las células NK a las células blanco, y la células NK activadas por las moléculas del anticuerpo podrá destruir a la células infectadas mediante sus mecanismos extracelulares, conjuntamente con los macrófagos y el CMH tipo II (Smith, 1996;

Zuckerman, 2000; Anderem & Underhill, 1999; Jackson & Wunner, 2002; SSA, 1999).

La apoptosis contra la infección rábica; aumenta la despolimerización de los filamentos de actina, provocando que se disminuya el transporte de virus en las células neuronales. Sin embargo, la excesiva replicación del virus de la rabia en la mayoría de los casos no puede ser detenida por este mecanismo de defensa (Hemachudha, 2002).

Cuando los mecanismos descritos anteriormente no constituyen la solución definitiva para defender al cuerpo; comienza una reacción de tipo adaptativa, donde el organismo adquiere inmunidad específica contra un invasor; donde se reconoce, destruye a los invasores extraños y retiene el recuerdo del encuentro (Pastoret, 1998; Tizard, 2000).

La inmunidad específica se divide en (Tizard, 2000):

- 1) Reacción inmunitaria mediada por anticuerpos o inmunoreacción humoral conferida por los linfocitos B.
- 2) Reacción inmunitaria mediada por células o inmunoreacción celular dada por los linfocitos T.

La médula ósea es la fuente más importante de linfocitos (Tizard, 2000).

En la médula ósea se forman los linfocitos B inmaduros capaces de sintetizar Ig's (inmunoglobulinas). En la médula ósea y placas de Peyer se diferencian a linfocitos B maduros que presentan en su superficie a las Ig's; después en los centros germinales de los ganglios linfáticos se proliferan al ser estimulados por antígenos y sufren una mutación somática para formar un gran clon de células plasmáticas capaces de elaborar el tipo de anticuerpo para el que fue programado el linfocito original, lo cual aumenta su capacidad de responder a los antígenos. Así, los linfocitos B son los encargados de la respuesta humoral (Pastoret, 1998; Tizard, 2000).

Los linfocitos T se diferencian en el timo y después abandonan el timo para acumularse en la paracorteza de los ganglios linfáticos, las vainas linfoides periarteriales del bazo y las regiones interfoliculares de las placas de Peyer.

Los linfocitos T son los encargados de la respuesta celular, son células especializadas que operan contra aquellas células que tienen un antígeno en su superficie. Por medio de receptores específicos reconocen al antígeno y a un marcador celular perteneciente a las moléculas del CMH ubicadas en la superficie de macrófagos denominados "células profesionales presentadoras de antígeno" (PA). Las proteínas CD4 se asocian únicamente a los linfocitos T de ayuda "Th" (helper) que actúan como receptores para moléculas del CMH clase II y las proteínas CD8 solo se encuentran en linfocitos T citotóxicos, que matan células anormales; por lo tanto CD8 es un receptor para las moléculas del CMH clase I.

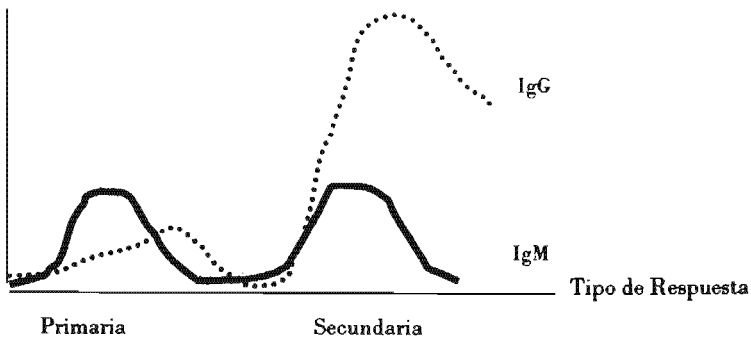
El desarrollo de la respuesta inmune específica primaria contra los agentes patógenos requiere que las células PA se encuentren en el sitio de infección. Las células PA se encuentran localizadas en lugares estratégicos del cuerpo; como por ejemplo en el caso del SNC se encuentran en meninges, en el líquido cerebro espinal y en el plexo coroideo (Fissher and Bielinsky, 1999; Fisher et. al. 2000; Pashenkov et. al. 2001) y son células que pueden migrar del SNC a los vasos sanguíneos y viceversa. Las PA juegan un papel central en la respuesta inmune

en las vacunaciones. La presentación de antígenos también ha sido descrita en las llamadas "células presentadoras de antígenos no profesionales", como son los neutrófilos, células endoteliales, fibroblastos, células NK e incluso las células musculares (Mackay & Fred, 2001; Tizard, 2000; Pastoret, 1998; Jackson & Wunner, 2002; Foged *et. al.*, 2002).

Por lo tanto, la presentación de antígenos virales se puede describir de la siguiente manera (Pastoret, 1998; Tizard, 2000):

- 1) Un virus invade una célula y toma el control de sus procesos biosintéticos, se forman antígenos endógenos que son proteínas virales producidas dentro de la célula infectada,
- 2) Quimiotaxis y fagocitosis del antígeno por el neutrófilo y/o el macrófago,
- 3) Fragmentación del antígeno,
- 4) Adhesión de los pedazos antigénicos o "epítopes" a las moléculas CMH clase I o clase II y las partes antigénicas son presentadas en la superficie de la célula PA; y así los linfocitos T específicos pueden reconocer al antígeno correspondiente, donde los antígenos ligados a las moléculas CMH clase I son presentados a los linfocitos T citotóxicas CD8 y los antígenos ligados a las moléculas CMH clase II son presentados a los linfocitos T de ayuda CD4 (Th1 y Th2).
- 5) Los linfocitos Th1 estimulan la respuesta inmune celular y la producción IgG e IgM. Los linfocitos Th1 estimulan las inmunoreacciones mediadas por células encaminadas a proteger el organismo contra los invasores intracelulares, como en este caso los virus.

Por lo tanto la concentración de las Ig's frente a un virus se comportará de la siguiente manera:



Los linfocitos Th2 son los que realmente estimulan a los linfocitos B para la producción de grandes cantidades de IgG, IgG3, IgM, IgA e IgE. Pero los Th2 estimulan inmunoreacciones mediadas por anticuerpos destinadas a dar protección contra invasores extracelulares (Pastoret, 1998; Tizard, 2000)

En los seres humanos hay 5 clases de Ig's: IgM, IgA, IgE, IgD y las subclases de las IgG. La IgG es la que se encuentra con mayor abundancia en la mayoría de los líquidos corporales internos, debido a que se difunde con mayor facilidad que las demás Ig's hacia los espacios extravacuulares y por esta razón es la que carga con la mayor responsabilidad en la neutralización (Desmézieres et al, 1999; Anderem & Underhill, 1999).

La protección contra enfermedades virales son mediadas primeramente por los anticuerpos neutralizantes y/o linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8. La proporción entre células CD4 y CD8 se utiliza para estimar la actividad linfocítica en situaciones clínicas. Un recuento elevado de CD4 significa que la reactividad linfocítica se ha incrementado a causa del predominio de linfocitos auxiliares,

mientras que el recuento alto de CD8 implica una depresión de la reactividad linfocítica; o sea, que el descenso del nivel de infección viral coincide con el ascenso de la actividad de los IFN y los linfocitos T CD8. Pero la infección persiste cuando el agente invasor evade o sobrepasa en número a los elementos de respuesta inmune, como la evasión que lleva a cabo el virus de la rabia lo cual no genera una inmunidad útil por que los virus se encuentran dentro de las neuronas protegidos del sistema inmunitario por la barrera hematoencefálica y precisamente en sitios desprovistos de drenaje linfático; por ésta razón las células linfáticas no entran en contacto hasta tiempo después de iniciada la enfermedad. La detección de anticuerpos protectores o neutralizantes se inicia hasta los 7 ó 10 días de la presentación de los síntomas y es cuando el enfermo evoluciona a la muerte rápidamente (Anderem & Underhill, 1999; Tizard, 2000; Jackson & Wunner, 2002; Desmézieres et al, 1999, SSA, 1999, Mackay & Fred, 2001).

En ratones inyectados con el virus cepa CVS de la rabia, muestran una progresiva infección que va de la médula espinal al cerebro acompañado con la producción de citocinas inflamatorias como las interleucinas (IL-1, IL-6) y IFN α ; y estas atraen a los linfocitos que migran a través de la barrera hematoencefálica; sin embargo la potencia migratoria de los linfocitos es cuestionable e ineficiente (Marquette et al., 1996; Camelo et. al., 2000). Así que, encefalitis fatales inducidas por virus altamente patógenos de cepa CVS o por virus de "calle" de la rabia, son acompañadas por una inmunodepresión caracterizada por la deficiente respuesta linfocítica y una marcada pérdida de inmunidad celular (Wiktor et. al., 1977) (Jackson Wunner, 2002).

Estudios han demostrado que los linfocitos T juegan un rol importante contra el virus de la rabia, ya que ratones inmunodeprimidos o sea deficientes de linfocitos T no eran capaces de presentar un buen nivel de anticuerpos al aplicarle la vacuna contra rabia en comparación a los ratones no inmunodeprimidos (Turner, 1976; Mifune et. al., 1981) (Jackson & Wunner, 2002).

Sin embargo, en 1994, se descubrió que la inmunidad celular puede acelerar el curso de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, pacientes con una inmunidad celular normal y con altas concentraciones de IL (IL-2, IL-6), morían rápidamente los pacientes que desarrollaban la enfermedad de tipo encefálica; pero los pacientes que desarrollaban la enfermedad de tipo paralítica sobrevivían por más tiempo (Hemachudha, 1994).

La "inmunogenicidad" se define como la estimulación de los mecanismos de defensa del organismo mediante la introducción del agente infeccioso ya sea muerto, atenuado o porciones de él con el fin de inducir una respuesta protectora específica por parte del huésped. Una vez que las células T y B han sido estimuladas por uno o varios antígenos del agente infeccioso, producen células que van a ser especialmente sensibles a contactos posteriores con el o los antígeno(s) denominadas "*células de memoria*". Las células B de memoria pueden procesar antígenos directamente y generar una respuesta anamnésica rápida o de refuerzo; que puede ser a veces a largo plazo; por ejemplo, en un estudio donde 80 personas vacunadas con vacunas de cultivo celular y sin refuerzo desde hace 2 - 14 años demostraron tener una inmunidad humoral y celular contra el virus de la rabia arriba o igual a 0.5 UI/ml (Anderem & Underhill, 1999; Buckley, 1998; Pastoret, 1998, Thraenhart et al, 1994).

La inmunización pre-exposición seguido por la exposición al virus de calle de la rabia en estudios realizados en animales, reduce en un 96% la mortalidad. La respuesta humoral contra la rabia favorece la protección y promueve la citólisis (Zuckerman et al, 2000).

Cuando se aplica una vacuna de rabia de primera y segunda generación; en la periferia del sitio de la inyección se activan los linfocitos; los individuos vacunados con inmunógenos inactivados presentan una alta producción de anticuerpos y linfocitos T CD4; sin embargo no generan linfocitos T CD8. En contraste con las vacunas de "DNA desnudo" que induce una respuesta inmune

completa, evitando el grado de patogenicidad que producen las vacunas inactivadas (Desmézieres et al, 1996; Jackson & Wunner, 2002).

Pero también hay que tomar en cuenta que la respuesta humoral y celular frente a las vacunaciones pre-exposición y/o el desenlace de la infección rábica frente a la vacunación post-exposición están influenciadas por múltiples factores que se dividen en (Van Loveren et al, 2001):

- Factores extrínsecos: la virulencia del invasor, cantidad de agentes virales inoculados, tiempo que ha transcurrido después de la agresión, tipo de tratamiento primario, tipo de vacuna y el procedimiento que se uso al aplicarla.
- Factores intrínsecos: difiere entre los individuos como edad, sexo, genética, tipo de trabajo que desempeña en el Centro de alto riesgo, que tenga alguna inmunodepresión, que el individuo fume, que tome algún medicamento como corticosteroides, el estrés psicológico, desnutrición, etc.

En general, los estudios epidemiológicos deben considerar estos factores al momento de obtener títulos de anticuerpos de cada individuo. En gatos, todos estos factores, son significativos; mientras que en perros el factor sexo no presenta efectos significativos con respecto a la seroconversión. (Van Loveren et al, 2001; Mansfield, 2004).

La función inmune declina con la edad. Las personas de edad avanzada tienden a aumentar su porcentaje de morbilidad y mortalidad frente a las infecciones y su respuesta a la vacunación declina. La razón es compleja, pero es un hecho que se reduce la eficiencia adaptativa del sistema inmune. La función del timo declina provocando alteraciones en el fenotipo y en las funciones efectoras de las células T; y se reduce la habilidad de las células B para producir

anticuerpos. Sin embargo, lo que se llama inmunidad innata es preservada e incluso aumentada durante el proceso de envejecimiento, por ejemplo, la función de los macrófagos no se ve alterada. Estudios realizados en perros vacunados contra rabia mayores de 12 años, se presentó una respuesta menor en la proliferación de los linfocitos en comparación con perros jóvenes; observándose que los linfocitos T CD4 se encontraban en muy bajo porcentaje y que los linfocitos T CD8 en un alto porcentaje (Lord et al, 2001; Lesourd & Mazari, 1999; HogenEsch, 2004).

En el 2001, se publicó el siguiente cuadro, el cual es un resumen de estudios realizados por Ceddia et al, en 1982 y Mastroeni et al, en 1994; donde comparan la seroconversión de la vacuna de rabia a diferentes edades en humanos (Leder et al, 2001):

Edad	Vacuna administrada	Tiempo post-vacunación	Seroconversión (UI/ml)
< 20 años	Vacunas de cultivo celular, post-exposición	18 días	28.65
		30 días	7.4
		90 días	13.6
< 40 años	Vacunas de cultivo celular, post-exposición	18 días	24.02
		30 días	7.7
		90 días	13.7
> 40 años	Vacunas de cultivo celular, post-exposición	18 días	19.51
		30 días	5.1
		90 días	10

Por esta razón, muchos autores sugieren que a la gente de edad avanzada se le administren hasta una dosis más en el esquema de vacunación contra la rabia, sin embargo esto aún no ha sido recomendado por CDC o la OMS (Leder et al, 2001).

Por otro lado, el estrés provoca que la modulación del sistema inmune se vea afectada frente a la vacunación; retrasando la inflamación y la eficiencia de las células T. Los linfocitos reducen su secreción de IFN; disminuyendo la eficiencia de las PA (Yang & Glaser, 2002, Kehrlí et al, 1999).

Con respecto a la seroconversión por sexo en 1999, Briggs y colaboradores compararon dos vacunas de cultivo celular, y resultó que las mujeres presentaban una concentración de anticuerpos contra rabia 1.3 veces mayor a la seroconversión presentada por los hombres. En el mismo estudio realizado en Cuba en el 2003, se demostró que de 22 mujeres vacunadas solo una (4.54%) no seroconvirtió y de 17 hombres vacunados tres (17.65%) no seroconvirtieron. (Ribas et al, 2003; Briggs et al, 1999).

En Cuba en el 2003, se realizó un perfil serológico de 26 muestras de individuos previamente vacunados, resultando que el 92% seroconvirtieron y el 8% fueron negativos. De los 26 trabajadores considerados de alto riesgo por laborar en contacto directo con el virus, dos (7.69%) resultaron negativos y los 24 restantes (92.31%) resultaron positivos. De los trabajadores que laboraban en área de mantenimiento, 2 (15.38%) resultaron negativos en el estudio. Observándose que una seroconversión contra rabia mayor en el grupo de personas que labora en exposición directa al virus. La explicación de estos resultados, se debe a que la variable "tipo de trabajo desempeñado" es un factor intrínseco que se suma a los demás factores intrínsecos y extrínsecos, provocando respuestas diferentes a las vacunaciones y/o a la exposición del virus de la rabia. (Ribas et al, 2003).

El análisis del comportamiento de los anticuerpos en cuanto al número de veces de aplicada la vacuna, se dividieron las muestras en 3 grupos: el primer grupo estaba compuesto por personas vacunadas una sola vez en su vida, el segundo grupo por los que fueron reinmunizados de 2 a 10 veces y el tercer grupos por los vacunados más de 10 veces; y se observó que el grupo que presentó menores anticuerpos fueron las personas vacunadas una sola vez y mayor a aquellos que habían reactivado la vacuna en múltiples ocasiones (Ribas et al, 2003). Estos resultados también se han observado en perros donde los perros viejos con mayor cantidad de vacunaciones presentan títulos mayores con respecto a los perros jóvenes los cuales han tenido menos vacunaciones. En Japón, se estudió la respuesta humoral en perros de un mes sin vacunación, se inmunizaron por primera vez contra rabia, al mes presentaron una seroconversión de 1.0 a 2.0 UI/ml. Al año siguiente sus niveles de anticuerpos decrecieron hasta llegar a 0.2-1.5 UI/ml.; así que se revacunaron inmediatamente, y a la semana se incrementaron sus títulos de anticuerpos hasta de 12 a 47 UI/ml (HogenEsch et al, 2004, Shimazaki et al, 2003).

2.4 SIGNOLOGIA CLINICA DE LA RABIA EN HUMANOS

La enfermedad comienza a partir del momento en que el vector del virus rábico inocula por mordida a hospederos susceptibles (en este caso es el hombre) y los mecanismos de defensa inespecíficos no son capaces de interceptar y anular al virus; es aquí donde los signos comienzan con hormigueo, dolor, irritación y/o parestesia en la región de la herida. El periodo "prodrómico" que puede durar de 2 hasta 10 días, presenta diversos síntomas y signos no específicos, como son: malestar general, náuseas, dolor de garganta, tos, vómito, diarrea, sensación de angustia, cefalalgia, ligera elevación de la temperatura corporal, retención urinaria, hiperirritabilidad, libido excesivo, decaimiento o agitación, anorexia, insomnio, alucinaciones y alteraciones sensoriales imprecisas, a menudo relacionadas con el lugar de la mordedura. El paciente puede estar perturbado por una ansiedad mal definida, la cual no responde a los tranquilizantes (Corey, 1992; Amasino et al, 2002, Loza-Rubio, 1998^a; Zuckerman et al, 2000).

Seguido del período prodrómico, se inician uno de los dos modelos clínicos clásicos:

- Tipo "furioso" o "encefálico" que se caracteriza por hiperexcitabilidad, hiperactividad, miedo, con periodos de atención cortos, hidrofobia, aerofobia, espasmos en músculos del cuello y abdomen, seguido de la flexión del cuello o raramente la extensión de éste. En la fase de excitación, hay hiperestesia y una extrema sensibilidad a la luz y al sonido, dilatación y contracción de las pupilas (Hemachudha et al, 2002; Zuckerman et al, 2000).

- Tipo "mudo" o "paralítico" que se caracteriza por una parálisis de tipo ascendente, observándose debilidad en el paciente. La excitación es menos evidente en la rabia paralítica, y los espasmos fóbicos aparecen en sólo el 50% de esos pacientes. Durante las etapas tempranas de la rabia paralítica, entre los signos más notables se incluyen el mioedema en los sitios de percusión, generalmente en la región del pecho, músculo deltoides y muslo, y la piloerección (Hemachudha et al, 2002; Zuckerman).

En ambos casos, a medida que la enfermedad progresa hay espasmos en los músculos de la deglución y la bebida es rechazada violentamente por contracciones musculares. Esta disfunción de la deglución se observa en la mayoría de los enfermos, muchos de los cuales experimentan contracciones espasmódicas laringofaríngeas a la simple vista de un líquido y se abstienen de deglutir su propia saliva. También pueden observarse sofocación y espasmos de los músculos respiratorios y convulsiones generalizadas. La fase de excitación puede ser predominante hasta la muerte o sustituida por una fase de parálisis generalizada. En otros casos, la fase de excitación es muy corta, y en casi todo el curso predomina la sintomatología paralítica. Las complicaciones neurológicas reportadas incluyen el aumento de la presión intracraneana, que puede ocurrir durante una fase de coma; donde existe un compromiso hipotalámico con producción y secreción inadecuada de hormona antidiurética produciendo temporalmente un cuadro de diabetes insípida, disfunciones autónomas con hipertensión, hipotensión, arritmias cardíacas e hipotermia también pueden observarse. Al término de la enfermedad se observa una parálisis progresiva con sudoración, convulsiones, opistótonos, sialorrea y muerte por asfixia y/o paro respiratorio (Amasino et al, 2002; Acha y Szyfres, 2001, Zuckerman et al, 2000).

Se reporta que la rabia también se puede desarrollar con signos diferentes o no clásicos, como son pérdida de la sensibilidad en el área afectada, ataxia, vértigo, desarrollo del Síndrome de Horner, agitación durante la noche y calma

durante el día, eyaculaciones espontáneas, debilidad en ambos brazos, sin espasmos fóbicos o sin excitabilidad. Se cree, que esto se debe a el tipo de transmisor de la rabia, si es un perro se desarrollan los signos clásicos, pero si es un murciélago hematófago los signos son diferentes. Por estas razones el establecer un diagnóstico clínico definitivo de la rabia en humanos requiere de signos encefálicos, para sospechar en primera instancia de esta afección (Hemachudha et al, 2002; Pleasure et al, 2000; Alloworth et al, 1996; Fraser et al, 1996).

A continuación se describe un caso que se presentó en California en el 2002: un paciente de 28 años acudió al servicio de urgencias al un centro médico, con síntomas que incluían cefalea, dolor mandibular, fotofobia, agitación, mareo, obnubilación, náusea y vómito. Recibió tratamiento de hidratación, se le administraron analgésicos y fue dado de alta. Al día siguiente, el paciente regresó al servicio de urgencias con aumento de la cefalea, dolor, agitación, parestesias en la cabeza y en las piernas, náusea y vómito. Posteriormente fue hospitalizado y se le tomó una tomografía computarizada que no reveló nada significativo, aparte de una sinusitis etmoidal derecha. A los 8 días se sospechó el diagnóstico de rabia, por lo que se obtuvieron muestras de suero y saliva, impresiones corneales y una biopsia nugal de las cuales no fue posible detectar el anticuerpo específico contra el virus de la rabia en el suero y la prueba directa de anticuerpos fluorescentes en las impresiones corneales resultó no concluyente (MINSAP, 2002).

A los 10 días se tomaron muestras adicionales de suero e impresiones corneales que resultaron positivas para el antígeno específico del virus de la rabia mediante la prueba directa de anticuerpos fluorescentes. La muestra de saliva resultó positiva para ARN del virus de la rabia mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa por transcripción reversa. Los análisis de laboratorio de las muestras de suero, indicaron una hiponatremia de 131 mEq/L (normal: 136–145 mEq/L), valores de ácido úrico de 1.5 mg/dL (normal: 2.5–8.0 mg/dL), creatin-

fosfoquinasa de 236 unidades/ml (normal: 25-90 unidades/ml) y leucocitosis de 11,500/uL (normal: 3,700-9,400/uL). El paciente continuó deteriorándose, con síntomas de una encefalopatía rápidamente progresiva, con fiebre, lenguaje incoherente, agitación progresiva y salivación abundante; en poco tiempo entró en coma, fue puesto bajo ventilación asistida, la cual fue retirada cuando falleció 13 días después, de haber asistido por primera vez a consulta. A través de un análisis de secuenciación genética, se identificó el virus como una variante asociada con el murciélago mexicano de cola libre (MINSAP, 2002).

El Departamento de Salud investigó la residencia del paciente y encontró una colonia de murciélagos en el desván. En este caso el paciente no mostró la exposición a través de la mordedura de un animal; pero la proximidad de una colonia de murciélagos sugiere que la más probable fuente de exposición al virus fue una mordedura no identificada. Se plantea que el paciente no solo enfermó gravemente por la exposición a un murciélago, es más probable que debido a la presencia de una colonia de murciélagos en la vivienda y varias exposiciones, hayan sido las causantes de la infección; debido a que los murciélagos tienen dientes pequeños y su mordedura puede pasar desapercibida.

Las situaciones en las que se sospecha de exposiciones inadvertidas, incluyen despertar y encontrar un murciélago en la habitación, encontrar un murciélago en la habitación de un niño que no estaba siendo vigilado, o ver un murciélago en la cercanía de una persona con alteraciones mentales o intoxicada (MINSAP, 2002).

2.5 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA RABIA EN HUMANOS

La sintomatología clínica de la rabia es compleja y comúnmente causa confusión al diagnosticarla y/o diferenciarla de otras enfermedades. El diagnóstico diferencial se realiza con enfermedades caracterizadas por encefalitis aguda y parálisis progresiva como las siguientes (Zuckerman et al, 2000; Kumate,1993; OMS-OPS,2002; Hemachudha et al, 2002; Trigo, 1998):

- a) *Meningitis aséptica*. Enfermedad caracterizada por una iniciación brusca de fiebre, dolor de cabeza y rigidez del cuello y es causada por diversos agentes :
- Virus primariamente neurotrópicos: arbovirus, poliomielitis, coriomeningitis linfocítica y encefalitis transmitidas por artrópodos.
 - Virus no primariamente neurotrópicos: enterovirus, parotiditis, herpes simple, herpes zooster, mononucleosis infecciosa, hepatitis infecciosa, varicela y sarampión.
 - Espiroquetas (*Treponema pallidum* y leptospiras)
 - Meningitis bacterianas mal tratadas
 - Micoplasmas o clamidias
- b) *Tétanos* y *botulismo*: Afecciones neuroparalíticas debidas a intoxicaciones con neurotoxinas protéicas producidas por las bacterias anaerobias *Clostridium tetani* y *Bacillus botulinum*, respectivamente. Los signos que se presentan con tétanos son contracciones musculares espasmódicos y generalizados, disnea, sudoración copiosa e hipertermia; y con botulismo se presenta una parálisis flácida caracterizada por debilidad muscular y confusión de los planos visuales, pérdida del reflejo a la luz, dificultad al deglutir, debilidad, pérdida de

coordinación de los músculos faríngeos, pérdida de control de los esfínteres y de los músculos voluntarios.

- c) *Síndrome de Guillain–Barré*. Conjunto de síndromes paralíticos donde el sistema inmunológico ataca a parte del sistema nervioso periférico, generalmente inicia con distintos grados de debilidad y/o sensaciones de cosquilleo; y después se adopta el curso clásico de parálisis flácida, simétrica con pérdida de reflejos y con trastornos sensoriales. Su pronóstico es mucho más serio cuando se relaciona a la vacunación antirrábica que con otras etiologías que hasta la actualidad son difíciles de definir.

- d) *Leucoencefalitis*. Enfermedad donde predomina la desmielinización. Son procesos postinfecciosos causados por mecanismos de inmunidad retardada, la mayoría se da en niños en etapa postvacunal (rubeola, sarampión, viruela).

- e) *Virus del Oeste del Nilo*. Enfermedad causada por un virus RNA de la familia *Flaviviridae*, que forma un grupo de síndromes patológicos caracterizados por trastornos que pueden ser subclínicos, ligeros, similares a una fiebre, como meningoencefalitis. Se transmite a través de la picadura del mosquito especie *Culex spp*, afecta principalmente a aves silvestres como los cuervos y algunas aves comerciales. De forma incidental afecta a los equinos y los humanos, siendo las manifestaciones clínicas más severas principalmente en adultos mayores de 50 años.

- f) *Enfermedades Priónicas*. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, es la encefalopatía espongiiforme que se presenta con la llegada al cerebro de una proteína anómala que provenga del exterior, convirtiendo las proteínas sanas (PrP) de la membrana de las neuronas en PrP anómalas. Presentándose el cuadro de demencia aguda no senil, ataxia, convulsiones, alucinaciones y pérdida de visión.
- g) *Intoxicaciones alimentarias*. Principalmente alimentos vegetales o animales contaminados por elementos como el plomo, residuos plaguicidas como los organoclorados y varios piretroides sintéticos, micotoxinas que contaminan al alimento, mercurio en alimentos marinos en forma de metilmercurio, etc.
- h) Reacciones a drogas y/o venenos.
- i) *Enfermedades Psicológicas*: Histeria o psicosis.

2.6 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA RABIA EN HUMANOS

Es una de las tareas de mayor responsabilidad para el médico veterinario, ya que la veracidad y rapidez del dictamen, depende la mayoría de veces, la vida de un ser humano (Valero, 1993).

2.6.1 DIAGNÓSTICO ANTEMORTEM

También llamado "*diagnóstico intra vitam*" de la rabia en seres humanos (Acha y Szyfres, 2001).

a) Detección de antígenos a partir de impresiones o biopsias.

El antígeno vírico puede detectarse mediante: la técnica de anticuerpos fluorescentes (AF) en impresiones corneales o biopsias de piel de pacientes con rabia, la técnica se basa en la unión del antígeno-anticuerpo, donde el anticuerpo se encuentra unido a un conjugado fluorescente (isotiocianato de fluoresceína) y que a la luz UV en el microscopio nos hace evidente al virus; sin embargo, las muestras positivas por AF son más comunes durante las etapas finales de la enfermedad. La(s) biopsia(s) se toma(n) de la zona de la nuca, piel con folículos pilosos que contengan nervios periféricos. Las impresiones corneales se obtienen de pacientes encefalíticos, tocando ligeramente la parte central de la cornea con un portaobjetos (Acha y Szyfres, 2001).

En algunas raras ocasiones, será necesario examinar biopsias de encéfalo para detectar la presencia de antígenos o virus de la rabia (Acha y Szyfres, 2001; Hemachudha, 1994).

La detección de anticuerpos a partir de impresiones o biopsias, varía considerablemente según la etapa de la enfermedad. La sensibilidad de ésta prueba es del 82% durante los primeros 4 días, y del 60% los días 5 y 8 post-exposición (Acha y Szyfres, 2001, Hemachudha et al, 2002).

b) Titulación de anticuerpos

Los anticuerpos neutralizantes presentes en el suero de pacientes no vacunados contra rabia o en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con vacuna de pre-exposición se detectan con:

- La prueba de seroneutralización (SN) en ratón o SN en cultivo celular.
- La prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (rapid fluorescent focus inhibition test-RFFIT).
- La prueba inmunosorbente ligada a una enzima (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA); empleando glucoproteína antirrábica purificada para determinar los niveles de anticuerpos neutralizantes de virus en el suero o líquido cefalorraquídeo. Determina principalmente los títulos de las IgG e IgM (Acha y Szyfres, 2001; Tizard).

Sin embargo las tres pruebas anteriores, producen resultados variables; ya que los anticuerpos neutralizantes de virus en el líquido cefalorraquídeo y suero usualmente tienden a aparecer después de los 7-10 días de contraída la enfermedad. A 31 pacientes positivos a rabia y sin vacunación previa, entre los días 3 y 9 días post-exposición, se les tomaron muestras de suero y solo 6 evidenciaron los anticuerpos seroneutralizantes, o sea, solo el 20% de los casos pudieron diagnosticarse por estos métodos (Acha y Szyfres, 2001; Hemachudha, 1994).

c) Resonancia magnética

Técnica topográfica basada en la alineación de cargas en un campo magnético, mostrando tanto en la forma paralítica como encefálica, imágenes axiales y sagitales una distribución anormal de las neuronas, principalmente en áreas del tallo encefálico rostral como el hipocampo y hipotálamo; y también en la corteza cerebral. (Hemachudha et al, 2002).

d) PCR

A partir de tejido nervioso, saliva, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, biopsias de piel y orina; se puede detectar el virus de la rabia, basándose en la amplificación de secuencias de ácidos nucleicos encontradas en estas muestras de diferentes días, por que no todas resultan positivas, debido a la intermitente dispersión del virus (Hemachudha et al, 2002).

2.6.2 DIAGNÓSTICO POSTMORTEM

a) Detección de Antígenos

A partir de la técnica de AF se hace un examen microscópico de impresiones, frotis o secciones congeladas de tejido encefálico, porciones bilaterales del tejido del hipocampo, del tallo encefálico y cerebelo (Acha y Szyfres, 2001).

b) Corpúsculos de Negri

En los países en desarrollo el examen microscópico de los corpúsculos de Negri sigue siendo útil para el diagnóstico, que es un procedimiento simple, rápido, sencillo y económico (Acha y Szyfres, 2001).

La detección de los corpúsculos de Negri mediante las tinciones de Sellers, May-Grunwald, Mann u otra técnica asegura el diagnóstico de rabia, pero cuando no se encuentran esas inclusiones no se puede excluir la posibilidad de la infección; por eso se recomienda no limitar los exámenes al tejido nervioso sino también investigar la presencia del virus en las glándulas salivales, en especial las mandibulares (Acha y Szyfres, 2001).

La técnica de tinción de Seller en improntas, era el primer método a utilizar en el diagnóstico postmortem de rabia, ya que es simple, rápido y económico. Esta basado en la búsqueda de los cuerpos de Negri y su interpretación en las improntas positivas se observan partículas de color verde manzana o amarillo verdosos con fluorescencia brillante sobre un fondo oscuro (Valero, 1993).

c) Aislamiento del virus *In Vitro* e *In Vivo*

Es un procedimiento ligeramente más sensible que la prueba de AF. El aislamiento se llevaba a cabo en ratones, preferiblemente de la estirpe albino suizo de 21 días de edad, ya que son más susceptibles al virus rábico; a estos se les inocula una dosis de 0.025 de virus con solución salina en el hipocampo, corteza y cerebelo; pero también se puede inocular en cultivos celulares (células de neuroblastoma), siendo este método tan eficaz como la inoculación del ratón, reduciendo el tiempo necesario para el diagnóstico de 10-15 días a 2 días y eliminando la necesidad de contar con animales experimentales, y es considerablemente menos costoso (Valero, 1993; Acha y Szyfres, 2001).

d) Detección mediante técnicas Biotecnología moderna

ELISA (prueba inmunosorbente ligada a una enzima), es un método basado en el empleo de anticuerpos unidos a enzimas, las cuales se ponen en contacto con un sustrato para detectar la reacción Antígeno-Anticuerpo, donde se visualiza por medio de diferentes grados de coloración o a nivel de densidad óptica. Se ha usado de forma exitosas para la detección de la nucleocápside, nucleoproteína y/o la glucoproteína, que son antígenos del virus en suspensiones homogéneas de cerebros que se creen están infectados (Tizard, 1996; Zuckerman et al, 2000).

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) detecta y amplifica segmentos específicos del ácido nucleico del virus en muestras del SNC (hipotálamo y cerebelo), ayudando a identificar el virus rábico por secuenciación automática. Es un método altamente sensible y exacto, inclusive en muestras degradadas y/o putrefactas. (Heaton et al, 1997; Echevarría et al, 2001; Loza-Rubio et al, 2004; Rojas AE et al, 2004)

HIBRIDACIÓN IN SITU: Es la hibridación de "sondas" (fragmentos marcados de una hebra de ADN o de ARN) con secuencias complementarias a ADN/ARN celular o viral, que en condiciones apropiadas forman híbridos estables. La hibridación puede hacerse sobre membranas sólidas (filtros de nylon o nitrocelulosa) y en cortes de tejidos o preparaciones celulares (in situ) embebidos en parafina o formol. La técnica consiste en marcar una sonda que va a detectar nuestra molécula de interés con una sustancia trazadora ya sea radiactiva o fluorescente y se va a incubar, para luego ser detectada y visualizada en un microscopio (Harper, 1998; Loza-Rubio, 2004).

Esta técnica permite llegar al diagnóstico de rabia cuando hay un bajo número de copias de virus y cuando se carece de tejido fresco o congelado para AF o búsqueda de corpúsculos de Negri. En la autopsia de un paciente que fue mordido por un perro rabioso, se encontraron infiltrados inflamatorios en cerebro y médula espinal pero un extenso muestreo no reveló cuerpos de Negri. Pero por medio de la hibridación in situ usando sondas tritadas de RNA se logró detectar en cerebelo, hipocampo, bulbo y médula espinal la presencia de RNA genómico del virus y mRNA de la glicoproteína viral (López-Corella et al; 1996).

Se han generado sondas específicas para diferenciar los ciclos del virus de la rabia en México; sin embargo ésta técnica resulta laboriosa ya que requiere de varios periodos de fijación e incubación y de muchas sondas para poder identificar a cada variante del virus rábico o de los diferentes Lyssavirus. La sensibilidad de ésta técnica levemente inferior a ELISA y PCR (Harper, 1998; Loza-Rubio, 2004).

2.7 VACUNAS DE USO HUMANO CONTRA LA RABIA

"La enfermedad inoculada" deriva el término vacunación (Velandar et al, 1998).

La rabia es la única infección neurológica que se puede prevenir por vacunación antes o después de una exposición al virus. La eficiencia de esta vacuna puede ser conferida antes de que el virus entre al cuerpo y alcance sistema nervioso (Lopez et al, 2002; Jackson & Wunner, 2002).

En 1881, Roux realizó las observaciones preliminares que luego constituyeron el segundo gran paso en el campo de la vacunación: "la atenuación"; notó que la virulencia del virus en fragmentos de la médula espinal infectada por el virus declinaba con rapidez una vez disecada, y desaparecía por completo luego de un período de 15 días. En ese mismo, año Pasteur logró proteger a 50 perros que habían recibido una inyección del virus altamente virulento y luego les administro una inmunización en base a inyecciones subcutáneas repetidas de suspensiones de médula espinal. La inyección inicial contenía extractos desecados no virulentos, y era seguida por inyecciones de fragmentos desecados en períodos más cortos (Otero, 2003).

El 6 de Julio de 1885, Pasteur realizó la primera vacunación contra la rabia con una vacuna que podría considerarse parcialmente inactivada; salvando así la vida de un niño llamado Joseph Meister, un niño campesino que había sido mordido por un perro rabioso, inoculándole material desecado procedente de tejidos del sistema nervioso con virus vivo, fijado a través de varios pasajes en conejos; aplicando una suspensión de médula de 15 días de desecación y posteriormente aplicó otras 12 inoculaciones en los 10 días siguientes con extractos de virulencia progresivamente mayor, obtenidas de médulas cada vez

más recientes hasta llegar a la de un día. Tras la aplicación, Joseph se curó a los 4 meses. El tratamiento de Pasteur tenía una mortalidad del 1 al 2 %, cuando era iniciado a tiempo; esta mortalidad es bastante baja, recordando que existen sujetos con deficiencia inmunológica que pueden no responder al tratamiento, además de ser en aquel momento una vacuna recién desarrollada. Pequeñas modificaciones fueran hechas por Emile Roux en 1887 y Calmette en 1891, cuando introdujeron el uso de la glicerina para la conservación de las médulas, permitiendo así el envío de vacunas para áreas distantes (SSA,1999; Ortiz y Roy, 2002; Schneider et al, 1994; Loza-Rubio y Gómez Lim 2004).

En el año de 1888, la vacuna con virus fijo de Pasteur fue traída directamente de París a México, por el Dr. Eduardo Liceaga. La vacuna fue reproducida y aplicada por primera vez el 23 de abril del mismo año en la ciudad de México; este tratamiento profiláctico antirrábico fue aplicado a un niño de 12 años con el nombre de Isidro Delgadillo que había sido mordido por un perro rabioso en Texcoco. El Dr. Liceaga encomendó al Médico Veterinario José de la Luz Gómez la preparación de la vacuna para tal efecto, esta vacuna se preparó a partir de médulas espinales desecadas por 12 días de conejos rabiosos; el Dr. Jesús Reyes fue el encargado de aplicar el biológico y de supervisar el tratamiento que fué exitoso. También en 1888, el Dr. Miguel Otero Arce en San Luis Potosí, logró replicar el trabajo de Pasteur y obtener un virus fijo a partir de la vacuna atenuada (SSA,1999; Schneider et al, 1994; Loza-Rubio y Gómez Lim, 2004).

En 1903 en la India, Kausauli investigador del Instituto Pasteur preparó el primer suero antirrábico equino (SAR), inmunoglobulina muy usada simultáneamente con la vacuna para el tratamiento contra la rabia por más de 45 años, pero algunas reacciones adversas diferenciadas por sus procesos de manufactura y contenido de proteínas llevó a la tarea de reemplazarlo por la globulina inmunizante contra la rabia humana (GIR); en el 2001 dos centros que manufacturaban SAR descontinuaron su producción; hecho que en países en

desarrollo económicamente no es rentable ya que el precio de la GIR es mayor (Goel et al, 2003; Khawplod et al, 2002).

Fermi en 1908 y David Semple en 1911, desarrollaron una vacuna a partir de cerebros de borrego y cabra infectados con el virus fijo de Pasteur, inactivando el producto con formol y fenol, como sustitutos de la inactivación por desecación que utilizaba Luis Pasteur; pero conservaron el mismo programa de vacunación. Las vacunas de tejido nervioso de animales tipo Fermi o Semple fueron utilizadas hasta los años 50, esto se debió a que esta vacuna resultaba rica en mielina y, en consecuencia, producía severas reacciones neurológicas en algunos pacientes, asociadas a la respuesta inmune contra esta proteína. Aparte la vacuna derivada de cerebro de oveja incrementaba significativamente la posibilidad de transmisión de la encefalitis espongiforme (SSA, 1999; Schneider et al, 1994; Loza-Rubio y Gómez Lim 2004).

En México por iniciativa del Dr. Liceaga, se fundó el Instituto Antirrábico en 1903, con el propósito de preparar y aplicar la vacuna antirrábica. En 1939 al integrarse el Instituto de Higiene se comenzó a preparar la vacuna tipo Semple, hasta que un triste episodio de la historia de las vacunas de tipo Fermi, ocurrió en Brasil en 1960, que ocasionó encefalitis rábica en un 27,3 % de las personas vacunadas, llevando a la muerte a 18 personas (SSA, 1999; Jackson & Wunner, 2002; Schneider et al, 1994).

Posteriormente se desarrollaron otro tipo de vacunas con el objetivo de no usar tejido nervioso, para así evitar accidentes post-vacunales. La vacuna inactivada para uso humano producida en embrión de pato (DEV), fué desarrollada por Powell et al., en 1950, este tipo de vacuna produjo muy poca actividad encefalitogénica, pero se descubrió que su elevado contenido de tejido embrionario podía presentar reacciones alérgicas. Esta vacuna DEV comenzó a ser muy comercial en los Estados Unidos en el año de 1957, pero aparecieron 21 casos de reacciones adversas con complicaciones neurológicas adversas en 595

mil personas vacunadas. En 1977, se hizo un estudio comparando ésta misma vacuna pero modificada por purificación por medio de ultracentrifugación llamándose ahora "vacuna de embrión de pato purificada" (PDEV), desarrollada en huevos de patos embrionados, pero eliminando las cabezas antes de preparar la vacuna con el fin de remover el tejido nervioso para evitar encefalitis alérgicas. En cuanto formación de anticuerpos contra rabia, fué poca la diferencia pero las reacciones adversas fueron menores con la PDEV. La OMS, en 1995 recomendó su uso tanto por vía intradérmica como intramuscular; demostrando ser más inmunogénica por vía intramuscular (Jackson & Wunner, 2002; Schneider et al, 1994; Khawplod et al, 1995).

En 1955, en el Instituto de Bacteriología de Chile, Fuenzalida y Palacios desarrollaron una vacuna antirrábica a partir de cerebros infectados de ratones recién nacidos, los cuales desarrollan la mielina hasta los nueve días de vida; por lo tanto está fue la primera vacuna sin mielina que ayudo a disminuir los accidentes neuromusculares que se manifiestan como encefalomielitis o polineuritis. Los rangos de complicaciones neurológicas descritas en la literatura especializada se redujeron de manera considerable: de un caso por cada 142 tratamientos a uno por cada 7 mil. La técnica Fuenzalida-Palacios para la preparación de la vacuna, ha sido modificada empleando ratones de no más de un día de vida, inoculando virus CVS por vía intracerebral al día 1 y cosechando a más tardar al día 4. La suspensión obtenida se purifica por medio de centrifugación a altas velocidades, con la intención de reducir aún más el nivel de sustancias encefalitogénicas en el producto acabado. Actualmente esta vacuna se usa de forma constante y exitosa en algunos países de Latinoamérica y varias partes de Asia y África, tanto para inmunizar humanos como perros; pero consciente de sus incidentes, la OMS ha señalado como fecha límite para su uso el año 2006. En México, el último lote se produjo en 1997 (Jackson & Wunner, 2002; Schneider et al, 1994; Amasino et al, 2002; Loza-Rubio y Gómez Lim, 2004).

La primera vacuna de cultivo celular, fue la vacuna de células diploides humanas (HDCV), producida en 1960 por Tadeo Wiktor y sus colegas en el Instituto Wistar de Filadelfia (*Wiktor et al. 1969*). HDCV es producida en células fibroblásticas humanas usando la cepa de Pitman-Moore, aislado originalmente del virus rábico de Pasteur. Es purificado y concentrado por ultracentrifugación e inactivado, con betapropiolactona (BPL). La vacuna HDCV probó ser más inmunogénica y menos alergénica en comparación a las vacunas usadas anteriormente. Esta vacuna cambió el concepto de la vacunación antirrábica, ya que provee un buen récord de eficacia y seguridad en la profilaxis de preexposición en personal de alto riesgo y postexposición para la gente en general. Los méritos de esta vacuna de cultivo celular son importantes, pero tienen un inconveniente muy grande que es el costo, por ejemplo en Brasil el costo se estima en aproximadamente 20 veces más que la de cerebro de ratón lactante que se utilizan actualmente en la mayoría de los países de Latinoamérica (*Jackson & Wunner, 2002; Schneider et al, 1994*).

En 1981, Fayaz y sus colegas demostraron que se obtenían niveles satisfactorios de anticuerpos en 27 pacientes tratados con HDCV en combinación con el suero hiperinmune equino (*Vodopija et al, 1997*).

En 1993, Fishbein et al, reportó que solo cerca del 6% de los pacientes previamente vacunados con HDCV, sufren reacciones alérgicas de tipo sistémico al recibir su dosis de revacunación con esta misma vacuna; reacciones como dolor de cabeza, dolor muscular, dolor de garganta, náuseas, comezón y depresión (*Dreesen, 1997; Briggs et al, 2001*).

En el año del 2001 en Australia, se recomendó el uso del esquema de preexposición con la vacuna HDCV para personas que viajan continuamente de un país a otro, aplicándoles por vía intramuscular o vía intradérmica; sin embargo unos meses después las autoridades reportaron que las personas vacunadas por vía intradérmica no estaban protegidas, y estas personas al revacunarlas una vez

más por vía intramuscular con HDCV presentaban una respuesta inmune favorable a los 5 días (Gherardin et al, 2001).

En 1984, Barth y sus colegas desarrollaron la segunda vacuna de cultivo a partir de células purificadas de embrión de pollo (PCECV) (Barth et al, 1984); demostraron que a partir de estas células obtenían una mayor producción de virus y en consecuencia una mayor producción de dosis en comparación de las células diploides humanas. La PCECV se obtuvo propagando la cepa Flury de bajo pasaje (LEP) en fibroblastos primarios de pollo. Ésta inactivada con BPL y purificada mediante centrifugación zonal. De manera simultánea en Japón; Kondo et al produjo la vacuna PCECV-K, la cual se realizaba de la misma manera que la de Barth pero propagando la cepa Flury a alto pasaje (HEP) en fibroblastos primarios de pollo (Jackson & Wunner, 2002; Loza-Rubio y Gómez Lim, 2004; Benjavongkulchai et al, 1997).

Barth y colaboradores en 1989, reportaron que no había evidencia de reacciones adversas contra PCECV en los pacientes que la recibían. Sin embargo, Bjok en 1985 y Briggs et al 1999, reportaron reacciones como dolor de cabeza y mareo en vacunaciones y revacunaciones con PCECV; aunque de menor magnitud a las producidas por la vacuna HDCV. Esta vacuna es usada en todo el mundo tanto en países industrializados y en vías de desarrollo. Mathusudana et al, 1989; Wasi et al, 1993 y Ljubic et al, 1995 reportaron que el tratamiento con PCECV, era 100% efectivo en pacientes con exposiciones de rabia muy severas (Jackson & Wunner, 2002; Briggs et al, 2001; Dreesen, 2002).

En 1999, se llevó a cabo un estudio donde a 165 personas divididas en dos grupos experimentales, se les administró el esquema de vacunación pre-exposición con HDCV y PCECV; todos resultaron seronegativos el día 0, el día 28 desarrollaron una seropositividad mayor a 0.5 UI/ml y al año, el estudio demostró claramente que tanto HDCV y PCECV presentaban resultados similares y se

comprobó que la vacunación con HDCV puede ser reemplazada en la revacunación con PCECV y viceversa (Briggs et al, 2001).

Otro tipo de vacuna de cultivo celular que se desarrolló con el objetivo de disminuir los costos, es la vacuna purificada obtenida a partir de una línea celular continua de riñón de mono verde (VERO o PVRV), cuyo costo es aproximadamente la mitad del precio de la de células diploides, ya que puede ser cultivada en biofermentadores con microtubos a gran escala y así grandes cantidades de vacuna se pueden producir a bajo costo. La vacuna de células VERO consiste en una suspensión inyectable, obtenida mediante la reconstitución del liofilizado del virus rábico cepa Wistar Rabies PM / WI 38-1503-3M inactivado con BPL con una solución de cloruro de sodio. Con esta vacuna se realizó un estudio donde se inyectaron a 119 individuos mordidos por un animal sospechoso de rabia, los resultados serológicos mostraron su alta antigenicidad. La seroconversión obtenida 14 días después de la tercera inyección fue del 100% detectada con la prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (RFFIT) y de 84.5% con la prueba de ELISA. Las vacunas de cultivo celular han sido bastante estudiadas, demostrando buenos resultados en la seroconversión de las personas vacunadas (*Suntharasamai et al. 1986, Kitata et. al. 1990*) (Jackson & Wunner, 2002; Schneider et al, 1994).

En 1997, se hizo un estudio con 62 personas que laboraban en centros de alto riesgo, los cuales se dividieron en cuatro grupos experimentales, éstos recibieron el esquema de vacunación postexposición 2-1-1 con las vacunas: PDEV, HDCV , PCECV y VERO respectivamente; todos recibieron el día 0 una dosis de suero hiperinmune de inmunoglobulinas de humano con 150 U.I. A las dos semanas de haber terminado el esquema de vacunación se les realizó una prueba de RFFIT y el 100% seroconvirtió con un rango de entre los 7.16 y 40.2 UI/ml. A los 3 años (1100 días) se volvió a correr otra prueba de RFFIT y el 56% se presentaba arriba o igual a los 0.5 U.I., estos mismos individuos se revacunaron y a los 14 días se titularon nuevamente los sueros; y el resultado fue

que la HDCV produjo una seroconversión de 30 UI/ml superior a la PDEV, PCECV y VERO, que presentaron una seroconversión de 20 UI/ml (Vodopija et al, 1997).

En 1992 la OMS, recomendó que: *“Las vacunas preparadas en cultivo celular deben reemplazar a aquellas que derivan de tejidos nerviosos lo más pronto posible”* (Dreesen, 1997).

En la actualidad, para la producción de vacunas antirrábicas inactivadas se emplean diversas cepas rábicas fijas adaptadas a células de cultivo celular como son (Acha y Szifres, 2001):

- Cepa Pasteur de París de virus rábico fijo de conejo; adaptada a las células VERO.
- Cepa Pasteur PV-11 de virus rábico fijo de conejo; adaptada a las células BHK-11.
- Cepa Pitman-Moore (PM) de virus rábico fijo, adaptada a células humanas diploides, primarias de riñón de perro, VERO, y Nil-2.
- Cepa CVS-27 (Challenge Virus Standard) de encéfalo de ratón de virus rábico fijo; adaptada a células BHK-21.
- Cepa Kissling CVS-11 adaptada a las células BHK-21.
- Virus rábico Flury adaptado al embrión de pollo de bajo pasaje (40-50 pases); adaptado a células primarias de embrión de pollo y BHK-21
- Virus rábico Flury adaptado al embrión de pollo de alto pasaje (227-230 pases); adaptado también a células primarias de embrión de pollo.
- Virus rábico Kelev adaptado al embrión de pollo (100 pases).
- Cepa ERA (Evelyn Rokitniki Abelseth) de virus SAD; adaptada a células de riñón de cerdo; adaptadas también a células BHK-21.
- Virus SAD (Street - Alabama - Duffering); adaptado a células BHK-21.

- Cepa Vnukovo-32 de virus SAD; adaptada a células primarias de riñón de hámster.
- Cepa Beijing de virus fijo de la rabia; adaptada a células primarias de riñón de hámster.

En México se emplean principalmente las vacuna tipo HDCV, VERO y PVRV con las que no se presentan las reacciones neuromusculares adversas. Estos biológicos, requieren únicamente cinco dosis como tratamiento post-exposición y tres dosis como tratamiento profiláctico, a diferencia de las 14 dosis empleadas anteriormente con las vacunas producidas en tejido nervioso (SSA 1999).

2.8 TRATAMIENTO CONTRA LA RABIA

Hasta nuestros días el único tratamiento lo constituye la vacunación. El tratamiento contra la rabia es siempre preventivo, y debe impedir que la enfermedad se desarrolle en el organismo; una vez que empiezan los primeros síntomas prácticamente es irreversible la muerte (Loza-Rubio, 2003, Schneider et al, 1994).

En 1973, el "Comité de Expertos de la OMS" en su IV informe, expusieron que el tratamiento se divide en (Acha y Szifres, 2001, Kumate, 1993; OMS-OPS, 2000):

1) Tratamiento local de las heridas en los casos de exposición a la rabia:

- a) Lavado inmediato de la herida a chorro de agua con jabón o detergente. A continuación, se puede aplicar alcohol al 40-70%, tintura de yodo o soluciones yodadas o compuestos de amonio cuaternario al 0.1%.
- b) Cuando este indicado por el médico se aplican medidas antitetánicas y/o antibióticos.

2) Tratamiento general específico contra la rabia:

Este se lleva cabo siguiendo el itinerario según cada caso:

ESTADO DEL ANIMAL SIN TENER EN CUENTA SI ESTÁ VACUNADO

<u>Naturaleza del contacto</u>	<u>En el momento del episodio sospechoso</u>	<u>Durante el período de observación de 10 días</u>	<u>Tratamiento recomendado</u>
<p>I. Contacto sin lesión o contacto indirecto.</p> <p>II. Lamedura de la piel con arañazos o erosiones; mordedura leve (en las partes cubiertas de los brazos, del tronco y de las piernas)</p> <p>III. Lamedura de las mucosas; mordedura grave (mordeduras múltiples o situadas en cara, cabeza, dedos y cuello)</p>	<p>a) Se va a observación el animal doméstico o salvaje sospechoso de rabia o con presuntos síntomas de rabia</p> <p>b) Manifestar como rabioso al animal salvaje o doméstico que no puede ser sometido a observación.</p>	<p>Sano</p> <p>Rabioso</p>	<p>Ninguno</p> <p>Iniciar vacunación e interrúmpase el tratamiento si el animal sigue sano durante cinco días.</p> <p>Iniciése la vacunación y si el diagnóstico es positivo continuar la vacunación.</p> <p>↓</p> <p>Administrar suero y vacuna en el caso de lesiones múltiples.</p>

Fuente: OMS-OPS, 2000.

Existen dos esquemas de vacunación, que la OMS propuso desde 1992:

1) La vacunación pre-exposición:

Consiste en aplicar la dosis de 1 ml.de HDCV, PCECV o VERO, vía intramuscular, los días 0, 7 y 21 ó 28. O bien, aplicar la dosis de 1 ml de HDCV, vía intradérmica, los días 0, 7 y 21 ó 28. Seguidas de su

revacunación a los 365 días. Este tratamiento se recomienda a personas que viajan continuamente de áreas endémicas a áreas libres, especialmente los niños; así como también aquellas personas que se exponen continuamente al virus. La vacuna intramuscular debe administrarse en la zona del músculo deltoides, y en el caso de los niños pequeños, también es aceptable la zona anterolateral del muslo. Nunca deben aplicarse las inyecciones de vacuna en la zona de los glúteos, ya que esto da como resultado títulos de anticuerpos neutralizantes más bajos (Dreesen, 1997; CDC, 1999; SSA, 1993; Hatz, 2003).

2) La vacunación post-exposición puede ser dos tipos:

- El "esquema estándar", es el más usado, se administra 1 ml. de vacuna de cultivo celular vía intramuscular los días 0, 3, 7, 14 y 30; como dosis opcional se menciona también la del día 90 (Dreesen, 1997).
- En el "esquema 2-1-1", se administran 2 dosis de 1 ml de la vacuna de cultivo celular vía intramuscular al día 0 y una dosis de 1 ml los días 7 y 21. La ventaja de este esquema de vacunación es que se puede obtener elevados títulos de anticuerpos a partir del día 14 (Dreesen, 1997; Vodopija, 1997).

Sin embargo, se considera que a la larga el régimen de vacunación intramuscular es de elevados costos y para reducirlos la OMS propuso en 1995 y 1996, dos esquemas de vacunación más, donde se recomendó la administración en distintos puntos del cuerpo, pequeñas dosis intradérmicas de vacunas antirrábicas de cultivos celulares (Mahusudana, 2002; OMS-OPS, 2000):

- El esquema "2-2-2-0-1-1" donde la vacunación consiste poner solo un quinto de la dosis intramuscular; esto es, poner dos dosis vía intradérmica de 0.1-0.2 ml VERO, 0.2 ml para la PCECV o PDEV. Aplicando a los días 0, 3 y 7. Para los días 30 y 90 solo se inocula una sola vez (OMS-OPS, 2000).
- El esquema "8-0-4-0-1-1" para HDCV o PCECV. La vacunación consiste aplicar en ocho diferentes sitios (zona del músculo deltoides, muslos anteriores, región supraescapular y cuadrante inferior del abdomen) inyecciones de 0.1 ml vía intradérmica el día 0, cuatro sitios el día 7 y un sitio los días 28 y 90. Este esquema es muy recomendado sobretodo en casos de exposición severa (múltiples mordeduras y/o rasguños, contacto de membranas mucosas con la saliva del agresor) o cuando no hay inmunoglobulina disponible (OMS-OPS, 2000).

En Filipinas se estudiaron 156 individuos con un riesgo bajo de exposición a la rabia, divididos en dos grupos experimentales; a un grupo se les administró por vía intradérmica 0.2 ml de la vacuna PDEV reconstituida en la región del músculo deltoides con el esquema de vacunación "2-2-2-0-1-1" y al segundo grupo se les administró cinco dosis del "esquema intramuscular estándar". A ambos grupos se les inoculó suero hiperinmune, el día 0. Según los resultados, los títulos de anticuerpos obtenidos con la administración intradérmica de la PDEV fueron más altos que los obtenidos por la vía intramuscular a los días 7 y 14 días, mientras que en los días 30 y 90 disminuyeron; aún en este periodo los títulos fueron a 1 UI/ml (OMS-OPS, 1995).

En el 2001 se notificó que al administrar vacunas intradérmicas, a los siete días se encuentra una seroconversión mayor a 0.5 UI/ml, pero de corta duración; y con la vacunación vía intramuscular se observa una seroconversión mayor a 0.5 UI/ml hasta el día 14, pero la prevalencia de anticuerpos dura hasta 2-3 años (Leder et al, 2001).

En el 2002, se publicó un estudio donde 89 personas se dividieron en cuatro grupos experimentales, a los que se les administró vacuna VERO sin aplicación de suero hiperinmune; al grupo I se le asignó el esquema 8-0-4-0-1-1, omitiendo la vacunación de los días 28 y 90, al grupo II se le administró 0.1 ml. de vacuna intradérmica en cuatro sitios, los días 0, 3 y 7, al grupo III se les inoculó 0.1 ml. de vacuna intradérmica en dos sitios, los días 0, 3 y 7; y al grupo IV se trabajó con el esquema estándar omitiendo solo la vacunación del día 28. Este estudio demostró cual esquema era superior para promover anticuerpos neutralizantes rápidamente sin el uso de inmunoglobulinas. Se observó una seroconversión mayor a 0.5 UI/ml en los cuatro grupos a partir del día 7, aunque con porcentajes del 90% en los grupos I y II, del 70% en el grupo III y 30% para el grupo IV. Los esquemas intradérmicos (grupos I, II y III) al ser aplicados de forma apropiada, disminuyen un 70% el costo de las vacunas sin arriesgar el nivel de anticuerpos neutralizantes que se esperan en un tratamiento postexposición. Estos esquemas presentan una gran ventaja para los países pobres donde la rabia es endémica. En este mismo año a 32 personas de diferentes edades con exposiciones severas se les administró el esquema 8.0.4.0.1.1. con inmunización activa de PCECV y una inmunización pasiva de suero hiperinmune el día 0. Y resultó que todos presentaron una seroconversión significativa y protectora a partir del día 7 y hasta los 3 años después (Khawaplod et al, 2002; Madhusaudana et al, 2002).

➤ **Tipo de inmunoglobulinas disponibles contra la rabia:**

- ***Globulina inmunizante contra la rabia humana (GIR) o suero homólogo:*** Es una gama globulina preparada por fraccionamiento en etanol frío a partir del plasma de personas hiperinmunizadas. El contenido de anticuerpos neutralizantes está estandarizado para que contenga 150 UI/ml (OMS-OPS, 2000; Kumate, 1993).
- ***Suero antirrábico equino (SAR) o suero heterólogo:*** Es un suero concentrado de caballos hiperinmunizados contra el virus de la rabia. El contenido de anticuerpos neutralizantes se estandariza para que contenga 1,000 UI por ampollita (aproximadamente 5 ml.) (OMS, 2000; Kumate).

En un estudio realizado a 28 equinos destinados a producir suero hiperinmune, se hicieron tres grupos experimentales. El grupo I se inmunizó al día 0 por vía subcutánea con 40 ml de una suspensión cerebro equino infectado con virus vivo (cepa Paris). La inmunización se repitió al día 30 con una dosis de 5ml, al día 33 con 10ml, al día 37 con 15 ml, al día 41 con 5 ml, día 44 con 10 ml y los días 48, 52, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98 y 105 con 15 ml. Al grupo II, se le inmunizó vía subcutánea con 1 ml. de PCECV y el grupo III, se vacunó vía subcutánea con 1 ml de VERO; administrándoles una dosis el día 0, dos dosis los días 21, 28, 35, 42 y 63; y cuatro dosis los días 70, 77, 84, 91, 98 y 105.

A partir del día 56 la promoción de anticuerpos en los grupos II y III fueron elevados en comparación al grupo I. Los equinos inmunizados con las vacunas VERO y PCECV estuvieron listos a partir del día 120 para obtener de ellos suero hiperinmune. El grupo I produjo suero hiperinmune hasta el día 225; lo cual llevo a la conclusión de las vacunas VERO y PCECV son una mejor opción para la producción de SAR en los equinos (Goel et al 2003).

La aplicación de suero hiperinmune se recomienda en casos de mordeduras múltiples al día 0 de vacunación, la dosis es de 40 UI/kg en el caso

de la inmunoglobulina equina y 20 UI en el caso de la inmunoglobulina humana, primero se infiltra la mitad alrededor de la(s) herida(s) y el sobrante se aplica por vía intramuscular; así aún cuando el período de incubación del virus es muy corto, la inmunoglobulina actúa antes de la vacuna para presentar títulos protectores contra la rabia (Dreesen, 1997).

Estudios realizados en hámsters revelan que usar el suero hiperinmune sin la vacunación, la mortalidad es del 90%, pero al administrarlo simultáneamente con la vacuna HDCV con el esquema estándar, promueve notablemente la producción de anticuerpos protectores contra la rabia, con un 100% de supervivencia. Al administrar la vacuna sin el suero, la prevención contra la rabia se encuentra limitada, en particular en los casos severos de heridas o mordeduras múltiples; ya que en la inmunización pasiva, la inmunoglobulina es un componente esencial en el tratamiento postexposición. Sin embargo, estos reportes son diferentes en humanos ya que en un estudio realizado en Japón a 98 individuos con exposición severa, se dividieron en cuatro grupos experimentales y se les aplicó el esquema estándar post-exposición: donde al grupo I se le administró la vacuna PCEC-K sin suero hiperinmune, el grupo II se le inoculó la vacuna PCEC-K con GIR, el grupo III se le inyectó la vacuna PCEC-K con SAR y al grupo IV (Control) se le administró la vacuna HDCV con GIR. Resultando que el grupo I presentó una seroconversión arriba de 0.5 UI/ml desde el día 14 al día 180; y solo una persona presentó títulos bajos hasta el día 360. El grupo II y III, fueron resultados parecidos donde un significativo número de individuos presentaron bajos títulos, el día 14 (12%), 90 (7%), 180 (12%) y 360 (55%). En el grupo IV se encontraron menos títulos bajos, el día 14 (3%) y el día 360 (5%). Lo cual hace pesar que el suero hiperinmune disminuye la acción de las vacunas de cultivo celular, y se recomienda que si se usa ambos tratamientos en casos de exposiciones múltiples y severas, se revacune al día 90 (Hanlon et al, 2001; Goel et al, 2003; Benjavongkulchai et al, 1997).

2.8.1 PRUEBAS SEROLÓGICAS POST-VACUNACIÓN

Las pruebas diagnósticas tradicionales, largas y dispendiosas se han reemplazado por las técnicas simples, rápidas y poco costosas para la demostración y búsqueda de antígenos; y esto ha producido una mayor agilidad en la definición del diagnóstico. (Ribas et al, 2003)

Existen diferentes métodos de diagnóstico para la detección de anticuerpos contra el virus rábico, entre los que están: la prueba biológica seroneutralización (SN) en ratón, la prueba de SN en placa, la prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (RFFIT), la contraelectroforesis (CIE), los inmunoensayos enzimáticos (ELISA), los radioinmunoensayos y la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), entre otras. Pero los métodos comúnmente son la prueba de SN en ratón y RFFIT, ambas miden los anticuerpos unidos al antígeno del virus la rabia con los que se desafia. (Crespo, 2000; Ribas et al, 2003; Cliquet et al, 2000; Smith et al 1996).

En 1892, George Stemberg descubrió la prueba de seroneutralización del virus y, no fue sino hasta 1996 que Trimarchi et.al., usaron diferentes líneas celulares y virus a diferentes dosis; para así realizar su lectura por dilución. (Tizard, 2000; Cliquet, 1997)

La prueba de RFFIT fue descrita en 1973 por Smith, Yager y Baer; donde la determinación de anticuerpos está indicada por una reducción de focos fluorescentes en células infectadas con el virus de la rabia. (Cliquet, 1997; Meisner et al, 1997)

Atanasiu y Perrin en 1979, introdujeron el método de ELISA como método de detección de anticuerpos contra la rabia. (CDC, 1999)

Pruebas de neutralización se publicaron en 1996 por Trimarchi et al, donde usaban diferentes líneas celulares, virus a diferentes dosis y su lectura se realizaba únicamente por dilución, haciendo más rápida y fácil su lectura. Cliquet et. al. en 1997 adaptó la prueba RFFIT a una placa de 96 posos a la que llamó "prueba de anticuerpos virus neutralizantes fluorescentes" (FAVN); comparó los resultados de ambas pruebas encontrando un índice de correlación de 0.86. La especificidad de la prueba de FAVN fue del 100% con 400 sueros de perros; sin embargo la sensibilidad de la prueba de FAVN fue de 89.6%, en comparación de la prueba RFFIT donde la especificidad como la sensibilidad fueron del 100%. Aunque menciona, que con la prueba de RFFIT pueden presentarse resultados de falsos positivos por efectos citotóxicos en sueros contaminados; lo cual puede ser una razón de su aparente "alta sensibilidad" (Cliquet et al, 2000).

En 1997 se evaluaron 333 muestras de suero de perros y gatos por medio de las pruebas de SN en placa y RFFIT. Los resultados de comparar ambas pruebas fue que RFFIT resultaba ser la prueba más rápida menos cara y menos tediosa que la de SN en placa. Tomando en cuenta que cuando la prioridad es el factor tiempo, la prueba de RFFIT se desarrolla en un tiempo de 24 hrs contra las 48 hrs que consume la prueba de SN en placa; así el volumen de muestras a trabajar es mayor con la prueba de RFFIT. Además que la prueba de SN en placa requiere de mayor manipulación y material para desarrollarlo. Los Centros de Prevención y Control (CDC) han adoptado la prueba RFFIT para la determinación de anticuerpos seroneutralizantes contra el virus de la rabia porque es una técnica rápida, económica y sensible. (Meisner et al, 1997; CDC, 1999)

En el 2000, se muestrearon 35 zorros que habían sido vacunados de forma oral, contra la rabia y a través de la pruebas de ELISA, RFFIT y SN en placa obtuvieron valores seroneutralizantes de la vacuna. Los resultados fueron que la prueba de ELISA era más precisa, con una correlación del 91% entre los resultados de la prueba de SN en placa. Con la prueba ELISA se obtuvieron resultados confiables a partir de muestras contaminadas de animales muertos; ya

que con la prueba de RFFIT y SN en placa se presentaban casos de “falsos positivos” (Cliquet et al, 2000).

En el 2003, Shimazaki y colaboradores encontraron una alta correlación (>0.95) en sueros de perros vacunados contra la rabia, trabajados en el laboratorio a través de las pruebas de SN y RFFIT (Shimazaki et al, 2003).

2.9 PREVENCIÓN, CONTROL Y ERRADICACIÓN DE LA RABIA

La rabia, en la mayoría de los casos es mortal, por lo que la prevención es el único método disponible para controlarla. La prevención consiste en la aplicación de vacunas antirrábicas a los animales susceptibles, así como para el personal que trabaja en contacto con animales que puedan transmitir la rabia como son los veterinarios, laboratoristas, agricultores, entre otros (Acha y Szyfres, 2001).

Los procedimientos usados en los programas de control y erradicación de la rabia urbana tienen por objeto la reducción rápida de la población de animales susceptibles, mediante la inmunización de los perros y gatos con dueño y la eliminación de los perros callejeros. Actualmente se dispone de un gran número de vacunas inocuas y de gran actividad para uso en perros. Las vacunas son de dos tipos: de virus inactivado y de virus vivo modificado (Acha y Szyfres, 2001; OMS-OPS, 2001).

El control de la rabia transmitida por quirópteros hematófagos resulta de especial interés para América Latina. Los procedimientos principales de control consiste en vacunar el ganado en las áreas expuestas y en reducir la población de los vampiros (Acha y Szyfres, 2001).

Para prevenir los casos humanos originados por quirópteros, se debe advertir a la población e instruir especialmente a los niños de que se abstengan de tocar o recoger murciélagos caídos o de capturar a los que vuelan durante el día. (Acha y Szyfres, 2001; OMS-OPS,2001)

3. OBJETIVOS DE LA TESIS:

- Titular anticuerpos seroneutralizantes contra el virus de la Rabia del personal previamente inmunizado que labora en: el Antirrábico de Cuautitlán, el Antirrábico de Cuautitlán Izcalli, el Antirrábico de Tultepec y en el laboratorio del Proyecto de Rabia del Centro Nacional de Microbiología Animal (CENID-Microbiología Animal) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), mediante dos pruebas:
 - 1) la prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (RFFIT), y
 - 2) la prueba seroneutralización (SN) en placa.

- Los resultados de RFFIT y de SN en placa se correlacionarán por medio de dos pruebas estadísticas: Prueba de Spearman y Prueba de Pearson.

- Por medio de la Prueba de Spearman y Prueba de Pearson se correlacionarán los resultados de RFFIT y de SN en placa a las variables: edad, sexo, municipio o delegación donde laboran y tiempo post-vacunación.

4. HIPOTESIS DE LA TESIS:

El título de anticuerpos seroneutralizantes contra el virus de la Rabia en personal que labora en Centros de alto riesgo y que ha recibido inmunización antirrábica preventiva, será mayor a 0.5 UI/ml.

Habrá correlación verdadera entre los resultados de RFFIT y los resultados de SN en placa.

Se encontrarán correlaciones verdaderas entre los resultados de RFFIT y de SN en placa con las variables: edad, sexo, municipio o delegación donde laboran y tiempo post-vacunación.

5. MARCO TEORICO:

5.1 LA RABIA EN MEXICO

El estudio y atención de la rabia humana requiere de información veraz y oportuna de los factores y condiciones que hacen posible su presentación; de la distribución de la enfermedad, de los riesgos y los daños que se generan ante los casos y contactos con este virus (SSA, 1999).

En nuestro país la transmisión se mantiene por que la rabia es enzoótica en los diferentes reservorios de los ciclos urbano y silvestre: el primero incluye al perro, el cual adquiere la infección por individuos enfermos, tomando en cuenta la libertad que tiene para deambular en la vía pública. La segunda, transmitida por animales silvestres, se diferencia en terrestre y aérea. Los reservorios son carnívoros como el zorrillo, coyote, zorro; y la otra de gran importancia epidemiológica es la de tipo aéreo, transmitida al hombre y a otros animales de sangre caliente por los quirópteros, principalmente por el murciélago hematófago (SSA, 2001; SSA, 1999).

Hoy en día en el medio rural mexicano el 50% de los casos de rabia en humanos se debe a murciélago hematófago, seguido por el zorro y el zorrillo (OMS-OPS, 2000b; Loza-Rubio y Gómez Lim, 2004).

En 1989 en la ciudad de México, se detectaron 1046 perros rabiosos y se reportaron cinco muertes por rabia humana. Para 1990 la rabia era un serio problema de salud pública en la mayoría de los países de Latinoamérica; los países que más notificaban casos humanos en números absolutos eran México y Brasil, con 69 y 73 defunciones, respectivamente. En los años de 1990 y 1995 el

Estado de México ocupó el primer lugar a nivel mundial en casos de rabia humana y canina; y no fue sino hasta 1996 que en la ciudad de México no se registró ninguna muerte por rabia en humanos (SSA 1996; Smith et al, 1996; Loza-Rubio, 1998b).

En el año 2000 el "Sistema Regional de Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas" (SIRVERA), publicó que en 1991 se presentaron 7,351 casos de rabia en perros y que en el año 2000 disminuyó a 244 casos. Evidentemente, a la par disminuyó el número de humanos contagiados; ya que en el año 2001 SIRVERA reportó que los países de las Américas notificaron 60 casos de rabia humana, lo que representó una reducción de 7,7% en relación al año anterior y del 59,7% comparado con el promedio de los últimos diez años; donde la mayoría de casos humanos fueron en Brasil, Ecuador, Haití, Bolivia y El Salvador. México, en el año de 1991 presentó 48 defunciones, en el 2002 no se presentó caso alguno y en el 2003 solamente hubo uno en humanos, en el Estado de Chiapas, importado del Salvador (OMS- OPS 2000; OMS- OPS 2000b; OMS- OPS 2001; Loza-Rubio y Gómez Lim, 2004).

Actualmente México ha logrado el control epidemiológico de la rabia en humanos debido a una serie de medidas que son importantes antecedentes en las investigaciones de campo, clínicas y de laboratorio, para realizar y promover los estudios epidemiológicos de caso, la notificación oportuna, el análisis de los datos y la publicación técnica y científica (SSA, 1999, Vargas Pino, 2004).

Entidad Federativa	2003	2004
Agascalientes	-	-
Baja California	-	-
Baja California Sur	-	-
Campeche	-	-
Coahuila	-	-
Colima	-	-
Chiapas	1	-
Chihuahua	-	-
Distrito Federal	-	-
Durango	-	-
Estado de México	-	-
Guanajuato	-	-
Guerrero	-	-
Hidalgo	-	-
Jalisco	-	-
Michoacán	-	-
Morelos	-	-
Nayarit	-	-
Nuevo León	-	-
Oaxaca	-	-
Puebla	-	-
Querétaro	-	-
Quintana Roo	-	-
San Luis Potosí	-	-
Sinaloa	-	-
Sonora	-	-
Tabasco	-	-
Tamaulipas	-	-
Tlaxcala	-	-
Veracruz	-	-
Yucatán	-	-
Zacatecas	-	-
Total	1 caso	0 casos

Fuente: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE) , Dirección general de Epidemiología (DGE) 2004.

A partir del año de 1990 se incrementaron las actividades de vacunación antirrábica canina, incorporándose dentro de las acciones masivas de protección a la población del país con la "Semana Nacional de Vacunación Antirrábica Canina", estrategia que coordina la participación Institucional y Sectorial, así como de la comunidad en sus grupos representativos (SSA, 1999).

Es necesario enfatizar los alcances conseguidos en los últimos años en la oportunidad, veracidad y calidad de la información para la morbilidad, la mortalidad, los daños y riesgos, que el Sistema Nacional de Salud a través del Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica CONAVE, continuamente ha fortalecido y que necesariamente han impulsado la vigilancia en Rabia Humana, apoyada con los recursos del Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE) para el manejo de la morbilidad; del Sistema Estadístico y Epidemiológico de las Defunciones (SEED) para el registro de la mortalidad, en este caso, con la participación del INEGI y del Sistema de Información Simplificada para la información de población de las áreas rurales y el Registro Hospitalario para la Vigilancia Hospitalaria (RHOVE) que capta, analiza y propone alternativas para los conceptos de infección intrahospitalario; por lo que respecta a los casos en los animales, su registro se remonta a 1970, a través de la Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas (VERA), que coordina y opera la Organización Panamericana de la Salud, actualmente a través de PANAFTOSA, en los países de la región, mediante informes de periodicidad semanal y mensual sobre registros de casos de rabia (SSA, 1999).

Por lo que respecta a las actividades de prevención y control de la rabia, el registro se lleva a través del Sistema de Información en Salud para Población Abierta (SISPA), el cual permite precisar, entre otros, los porcentajes de personas con tratamiento pre y post-exposición, el número de muestras que se envían a laboratorio para precisar un diagnóstico de rabia y el porcentaje de positivos, las actividades de biológicos antirrábicos (humano y canino), que se aplican las unidades operativas de la Secretaría de Salud y que contribuyen en la vigilancia epidemiológica de esta zoonosis (SSA, 1999).

5.2. SALUD PÚBLICA

Los problemas sanitarios que se producen en la convivencia animal-persona en los centros urbanos exigen, por la complejidad de los componentes involucrados, una consideración especial. Es sabido que el perro es uno de los animales domésticos que tienen mayor contacto con la especie humana; por ello es importante mantener un óptimo control sanitario sobre esta especie, con el objeto de prevenir los problemas de salud animal y a su vez disminuir el riesgo de las enfermedades transmisibles al hombre (Morales et al, 2002).

En América latina los principales animales que transmiten la enfermedad son los perros. Recientemente, los murciélagos hematófagos, y los no hematófagos representan un problema creciente tanto para la salud pública, como para la veterinaria (MNSAP, 2002; Loza-Rubio, 2003).

La epidemiología es la ciencia que trata del estudio de la distribución de las enfermedades, de sus causas y de los determinantes de su frecuencia en el hombre, así como del conocimiento de la historia natural de la enfermedad y del conocimiento de datos para una intervención orientada al control o erradicación de ellas. Y es una disciplina integradora, ecléctica, que para estudiar la enfermedad en poblaciones, aprovecha conceptos y métodos de otras disciplinas, tales como la estadística, la sociología, la biología, etc (ISP-SVSP, 2004).

La epidemiología de la rabia humana refleja la existencia de un reservorio animal para el virus de la rabia y la oportunidad de que haya una interacción humano-animal, en el caso de la ciudad la convivencia tan estrecha existente entre el hombre con los perros y/o gatos promueve la transmisión de enfermedades como lo es la rabia que es una enfermedad que se debe mantener

en constante vigilancia epidemiológica, ya que se ha comprobado que cerca del 90% de los casos de rabia en el hombre son debidos a la transmisión por el perro y sólo un 5% por parte del gato (Jackson & Wunner, 2002; Ortiz y Roy, 2002).

La Vigilancia Epidemiológica es el estudio permanente y dinámico del estado de salud en la población, tiene como propósito presentar alternativas para la toma de decisiones. Desde el punto de vista operativo incluye la recopilación, ordenamiento y el análisis de los daños y riesgos en salud. El conocimiento científico y la experiencia epidemiológica que considera a la rabia como un problema vulnerable, con capacidad de eliminar las defunciones, cuando menos para la especie humana, siempre y cuando se cuente con los recursos materiales. El control efectivo y la información que proporciona la Vigilancia Epidemiológica y la Epizootiológica, respectivamente, pueden ayudar a obtener una comparación del costo beneficio y costo efectividad de las acciones de vacunación antirrábica en humanos y en perros como se vió en el período 1994 – 2000, según el Programa para la Prevención y Control de la Rabia en México, donde los gastos realizados fueron de \$121,331 pesos en tanto que los beneficios esperados, en años de vida productiva ganados y gastos evitados, determinaron un ahorro esperado de \$195,916 pesos (SSA, 1999).

La rabia es una enfermedad de notificación obligatoria en la mayoría de los países, y los casos positivos y sospechosos deben reportarse a la autoridad local de Sanidad Animal (Valero, 1993).

Por otro lado, la detección de anticuerpos es importante para documentar la prevalencia de una infección en individuos y poblaciones, así como también el realizar un diagnóstico adecuado que permite conocer la epidemiología de la infección viral y determinar las connotaciones que implica a nivel de salud pública. La presencia de anticuerpos neutralizantes en el suero de personas o animales que han recibido inmunización antirrábica se relaciona con la protección contra la enfermedad, por esta razón, su determinación es de gran utilidad para la

evaluación del estado inmune del personal de riesgo, de los individuos previamente vacunados por haber sido agredidos por un animal rabioso y para realizar estudios seroepidemiológicos (Crespo, 2000; Ribas et al, 2003).

El laboratorio ocupa un rol central en el control y prevención de esta enfermedad; donde la prueba de seroneutralización sirve para determinar la cantidad de anticuerpos antirrábicos presentes en sueros humanos o animales luego de las inmunizaciones preventivas. La vigilancia epidemiológica a nivel nacional necesita de la ayuda del laboratorio para obtener información valedera que permitan establecer programas de control a través de las diferentes Direcciones Regionales de Salud (López Ingunza et al, 2002).

5.3 PERSONAL DE ALTO RIESGO

Zoonosis, son todas aquellas enfermedades que se transmiten de modo natural de los animales al hombre. Las enfermedades zoonóticas son un extenso número de las cuales se enumeran alrededor de 150 clases de infecciones e intoxicaciones humanas que tienen reservorios en los animales. La mordedura de un animal puede ser motivo de la transmisión de la rabia; las picaduras de algunos artrópodos como las garrapatas y varios insectos, pueden ser causa de transmisión de algunas enfermedades peligrosas para el ser humano. Personas dedicadas a actividades de tipo agropecuario pueden correr el riesgo de contraer alguna enfermedad proveniente de un reservorio animal, como la carne y sus derivados. Los ganaderos corren el peligro de contagiarse, si antes no hacen un análisis del estado de salud de los animales. Agricultores, veterinarios, trabajadores en empacadoras de productos vegetales y animales, tienen el riesgo de infectarse de alguna enfermedad zoonótica (Acha y Szyfres, 2001).

La rabia continúa siendo una de las zoonosis más importantes en el mundo, y representa un problema serio en muchos países. Se trata de una enfermedad infecciosa viral, aguda y de consecuencias fatales. Afecta principalmente el sistema nervioso central (SNC) y al final produce la muerte en su víctima. Sin embargo, la rabia es la única infección neurológica que se puede prevenir por vacunación antes o después de una exposición al virus. La eficiencia de esta vacuna puede ser conferida antes de que el virus entre al cuerpo y alcance al sistema nervioso (Lopez Ingunza et al, 2002; Jackson & Wunner, 2002; Chrisman, 1997).

En 1978, el Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos establecieron el uso de las Unidades Internacionales (UI) para evaluar la respuesta de los anticuerpos seroneutralizantes conferidos por la vacuna antirrábica (OMS, 2003).

En 1984, el Comité de Expertos de la OMS en Rabia ha señalado que, en ciertas condiciones, el virus fijo puede ser patógeno para el hombre y los animales (Organización Mundial de la Salud,); ya que se conocen casos de rabia en personas que recibieron vacuna antirrábica mal inactivada y un caso por inhalación de virus al preparar una vacuna concentrada. Por esta razón, se deben llevar a cabo pruebas serológicas en una muestra representativa de animales y de personas vacunadas, a fin de evaluar la inmunogenicidad de la vacuna en el terreno (OMS, 2003, Acha y Szyfres, 2001).

Todo personal que se desenvuelve en actividades relacionadas con el manejo de animales susceptibles a la rabia y aun más en áreas epidémicas para dicha enfermedad como son los Médicos Veterinarios, Técnicos en manejo de perros y voluntarios en campañas de vacunación canina son huéspedes susceptibles de adquirir en determinado momento la enfermedad. Personas que trabajan como guarda bosques, cazadores, están expuestos a la mordedura de animales silvestres, que pueden ser transmisores de la rabia. Personal que trabaja

con animales de laboratorio ha sido afectado por enfermedades que les han transmitido especies con ambientes aparentemente controlados, y en algunos de los casos se ha producido la muerte en alguno de ellos (SSA, 1993).

Los grupos de población de alto riesgo, se clasifican en (SSA 1993):

- a) **Personas de laboratorios, industrias o empresas que trabajan con el virus de la rabia.**
- b) **Personas de centros de trabajo dedicados a la atención de animales potencialmente transmisores de rabia (Centros Antirrábicos y Clínicas Veterinarias)**
- c) **Profesionales y personas que manejan regularmente animales tanto domésticos en estabulación o manejo intensivo, como silvestres en Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre.**

Las medidas de precaución son importantes para cualquier persona que tenga contacto con animales o muestras contaminadas con el virus de la rabia. Se ofrecen varias recomendaciones generales que se deben llevar a cabo para evitar desenlaces fatales. Las principales medidas de precaución son (Acha y Szyfres, 2001):

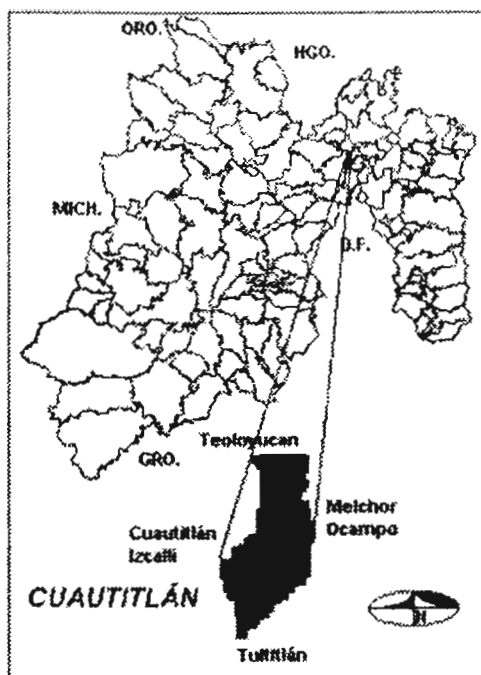
1. El personal que labora en los centros de alto riesgo debe de recibir un tratamiento antirrábico preventivo.
2. Debe utilizarse ropa adecuada para trabajar (guantes, botas bata, cubrebocas o, en su caso, un overol en vez de bata).
3. La herramienta de trabajo (cuchillos, bisturí, pinzas, sierra) deben ser siempre los mismos.
4. Cuando se extrae la muestra de un cadáver para su análisis, es necesario deshacerse de él incinerándolo; o si se trata sólo de un cerebro hay que eliminarlo después de algunos días, luego de confirmar su resultado.

5. Después de concluida la necropsia, debe procederse a la desinfección y lavado del material y herramientas usados, así como el área donde se trabajo (mesa y pisos).
6. Colocar la ropa de trabajo en un mismo sitio para evitar contaminaciones en otras secciones del laboratorio.
7. Por último, lavarse las manos; esta acción hay que hacerla también al principio.

El Comité de Prevención en prácticas de inmunización (ACIP) originariamente recomendó de rutina refuerzos de la vacuna cada 2 años para personal de alto riesgo en el año de 1991. Sin embargo, se descubrió que el 10% de los revacunados presentaban reacciones de tipo alérgica; así que en 1999, el ACIP cambio su recomendaciones de poner refuerzos cada 2 años a la evaluación serológica de anticuerpos neutralizantes contra el virus de la rabia en personas de alto riesgo; donde solo se revacunarán a personas que presenten un nivel de anticuerpos menor a 0.5 UI/ml (Jackson & Wunner, 2002; SSA, 1993).

5.4. JURISDICCIÓN SANITARIA CUAUTITLÁN

La Jurisdicción Sanitaria de Cuautitlán se encuentra ubicada en la calle Ignacio Ramírez no.202, Barrio El Huerto, en el municipio de Cuautitlán localizado en la parte noroeste del Valle Cuautitlán-Texcoco, al norte del Estado de México:



A esta Jurisdicción Sanitaria, le compete atender casos rábicos de los municipios de: Cuautitlán Izcalli, Cuautitlán de Romero Rubio, Tultitlán, Tepozotlán, Tultepec, Teoloyucan, Melchor Ocampo y Coyotepec, municipios representados en el siguiente esquema:



Los casos de rabia canina en estos municipios han sido:

Año/municipio	C. Izcalli	Cuautitlán	Tultitlán	Tepozotlán
1997	4 casos	1 caso	10 casos	7 casos
1998	5 casos	-	6 casos	-
1999	-	1 caso	5 casos	-
2000	-	-	3 casos	-
2001	1 caso	-	5 casos	-
2002	-	-	-	4 casos

Fuente: Archivos de la Jurisdicción Sanitaria de Cuautitlán México.

En el año del 2002 los municipios de Tultepec y Coyotepec presentaron seis casos, respectivamente, mientras que el municipio de Melchor Ocampo cuatro casos. Durante este mismo año, en todo el Estado de México se reportaron 35 casos de rabia canina. En el municipio de Cuautitlán Izcalli aparentemente el problema de la rabia en los seres humanos se ha podido controlar hasta el punto que desde el año 1996 hasta la fecha no se ha reportado casos de rabia en seres humanos de este municipio. Sin embargo, se siguen reportando casos de rabia en equinos, bovinos y principalmente en caninos en los municipios vecinos a Cuautitlán Izcalli como Tultitlán y Tepozotlán, donde se reportaron 24 casos en el 2000, 20 casos en el 2001 y 16 casos en el 2002 (Quintero García, 2004).

Esta zoonosis, continúa presentándose en los animales de estos municipios, principalmente Tultitlán. Esto es preocupante debido a que en cualquier momento el humano se puede convertir en un huésped accidental; incluyendo al personal que labora en Centros de alto riesgo si estos no presentan un adecuado título de anticuerpos contra la rabia. (Quintero García, 2004)

6. MATERIALES:

- Línea celular: BHK-21 (riñón de hámster bebé)
- Solución Salina Fosfatada (PBS)
- Tripsina al 0.01%
- Medio de crecimiento: Medio BHK-21 , Caldo Triptosa Fosfatado (TBP), suero fetal bovino, bicarbonato de sodio y antibiótico (MEM).
- Conjugado antirrábico, que es un complejo constituido por anticuerpos contra la rabia y un colorante fluorescente; ya sea isotiocianato de fluoresceína o chemicón.
- Campana de extracción, refrigeradores de -70°C , -20°C y -4°C , incubadoras de CO_2 a 37°C , centrifugas, microscopio invertido de luz blanca y de luz UV, placas de cultivo celular de 96 pozos o lab-teck, micropipetas, etc.
- Virus de rabia cepa ERA.
- Sueros problema, en este caso corresponden a los que se me proporcionaron por parte de la Jurisdicción Cuautitlán.
- Suero control positivo o suero de referencia.
- Suero control negativo.

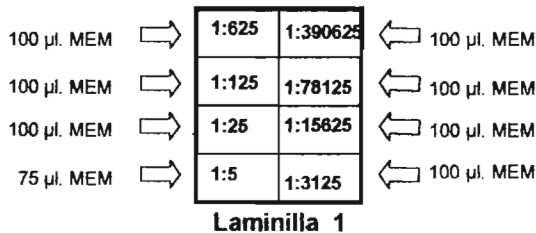
7. MÉTODOS:

7.1. PRUEBA RÁPIDA DE INHIBICIÓN DE FOCOS FLUORESCENTES (RFFIT)

Se realizó de la siguiente manera:

En la primera laminilla se trabajó el suero problema, al primer pozo que corresponde a la dilución 1:5 se le agregaron 75 μ l. de MEM y los pozos siguientes, que corresponden las diluciones que van de 1:25 a 1:390625 se les añadieron 100 μ l. de MEM a cada uno.

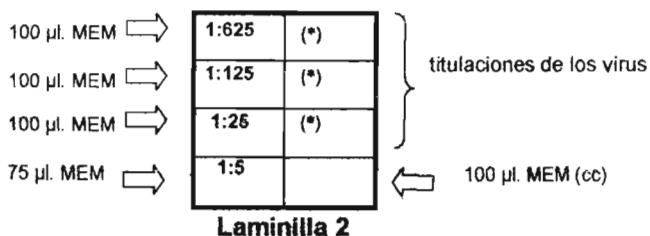
ESQUEMA 1



En otra laminilla se trabajó el suero de referencia, las células control (ζ) y la titulación de los virus. En el pozo inferior se agregaron 75 μ l. de MEM y a los siguientes cuatro pozos se les añadieron 100 μ l. de MEM.

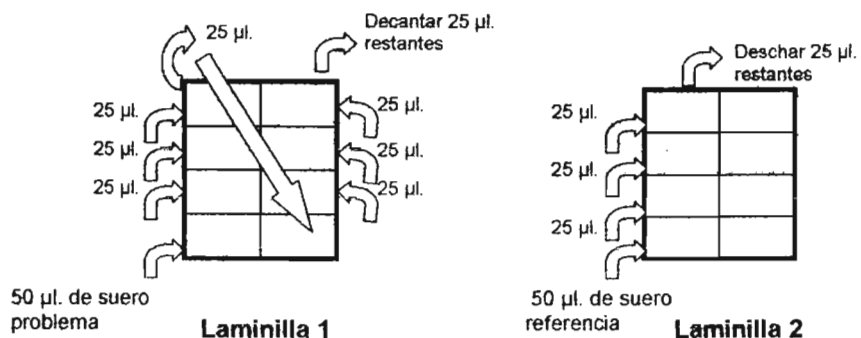
(*) Corresponde a la titulación viral y por el momento no se le añade nada (Esquema 2).

ESQUEMA 2



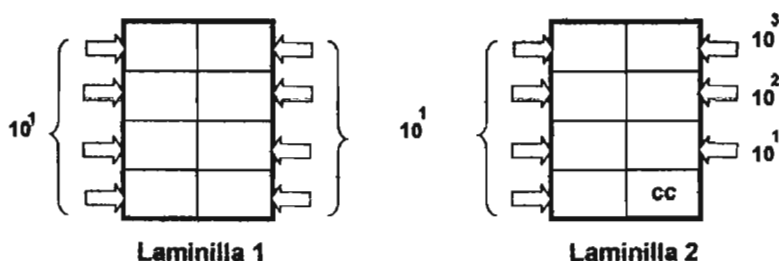
En los pozos que contenían 75 µl. de MEM se le agregaron 50 µl. del suero problema o suero de referencia según correspondiera, se homogenizó la mezcla y se transfirieron 25 µl. al siguiente pozo, y así sucesivamente hasta llegar a 1:390625 en el caso del suero problema y a 1:625 en el caso del suero de referencia.

ESQUEMA 3



En los todos los pozos donde se realizaron las diluciones de los sueros, se les añadió 100 μ l. del virus que en el microscopio de luz UV haya presentado 20 focos fluorescentes, en este caso fue 10^1 . Y en la laminilla de referencia se agregaron 100 μ l. de los tres títulos de los virus en forma ascendente como se muestra en el esquema 4. El pozo de células control (cc), no se le agregó virus.

ESQUEMA 4



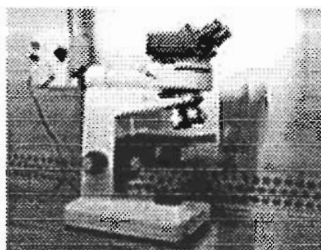
Las laminillas se incubaron en una cámara húmeda con 0.5% de CO₂ a 37°C por 90 minutos.

Al término de la incubación, se agregaron 2×10^5 de células BHK-21 a todos los pozos. Se incubaron en una cámara húmeda con 0.5% de CO₂ a 37°C por 20 hrs.

Después de 20 hrs. se desechó el sobrenadante y se agregaron 100 μ l. de PBS a cada pozo, decantando el PBS de una sola intención. Las laminillas se sumergen en acetona al 100% a -20°C durante 30 minutos. Las laminillas se secaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregaron 50 μ l. de conjugado antirrábico a cada pozo y se incubaron en cámara húmeda con 0.5% de CO₂ a 37°C por 30 minutos.

Posteriormente las laminillas se enjuagaron dos veces con PBS y una vez con agua destilada.

La lectura se realizó en un microscopio invertido de luz UV.



La interpretación se llevó a cabo contando el número de focos fluorescentes encontrados en cada dilución.

7.1.1 MÉTODO PARA CALCULAR LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE RFFIT

Los títulos se obtuvieron en diluciones; por ejemplo el suero problema no. 1 se presentó de la siguiente manera:

1:5	0/20
1:25	0/20
1:125	0/20
1:625	20/20
1:3125	20/20

Estos resultados presentan la seroneutralización del virus hasta la dilución 1:125, pero en la dilución siguiente que es 1:625, los anticuerpos de este suero no neutralizaron más al virus de la rabia.

Para este estudio se requirió transformar este título a Unidades Internacionales (UI). En el **Anexo 1** se encuentra la tabla utilizada para éste propósito. Siguiendo el ejemplo del suero problema no. 1, se buscó:

1:125	0/20
1:625	20/20

La tabla (Anexo 1) da un número en la parte inferior que es: **280**.

Obteniendo este número se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Título en U.I.} = 280/110$$

Donde **110** es un número constante obtenido a partir del suero referencia.

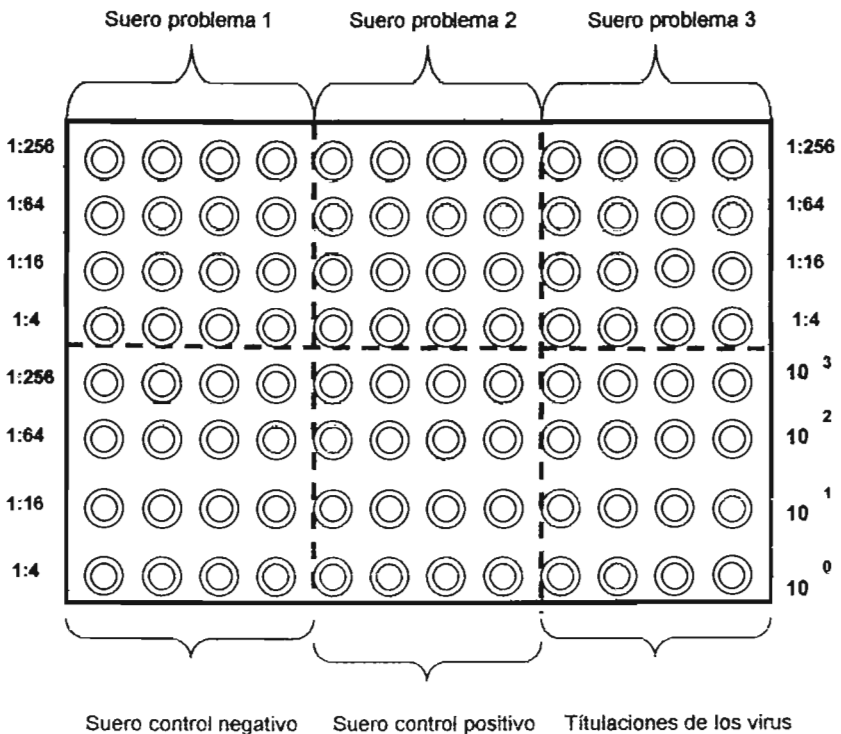
Por lo tanto, el título del suero problema no.1 es = **2.5 UI**

7.2 PRUEBA DE SERONEUTRALIZACIÓN (SN) EN PLACA DE 96 POZOS

La placa se dividió en seis secciones, como lo muestra el esquema 5.

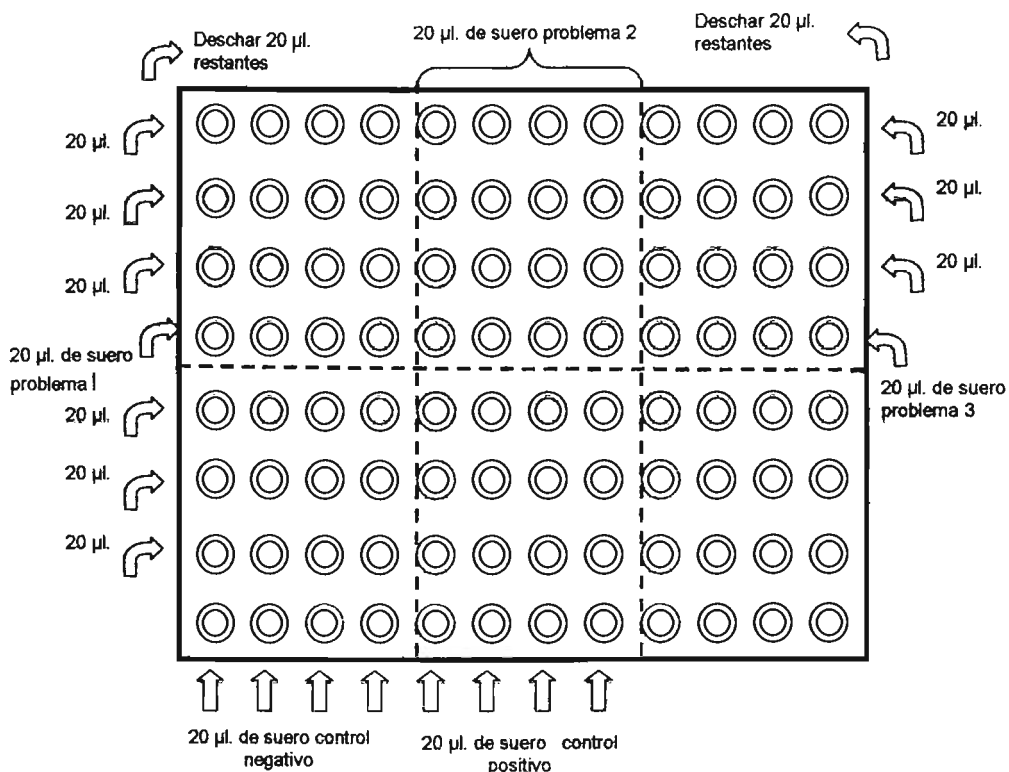
Con una pipeta multicanal se agregaron 60 µl. de MEM en los pozos de las secciones que corresponden las diluciones de los tres sueros problema, suero control positivo y suero control negativo. Los pozos que corresponden a los títulos de los virus no se les agregó nada, por el momento.

ESQUEMA 5



Se agregaron 20 µl. de suero problema o sueros control positivo y negativo; según fuese el caso y se homogenizó la mezcla transfiriendo 20 µl. al siguiente pozo hasta llegar a la dilución 1:256.

ESQUEMA 6



A cada pozo se le agregó 60 µl del virus que en el microscopio de luz UV haya presentado 20 focos fluorescentes, en este caso fue 10^{-1} . En los 16 pozos que corresponden a los diluciones de los pases del virus se les agregan 60 µl. del pase del virus que les corresponde, de manera ascendente como se indica en el esquema 5.

La placa se incubó en cámara húmeda con 0.5% de CO₂ a 37°C, durante 90 minutos.

Al término de la incubación se agregaron 1×10^5 células BHK-21 en cada pozo y la placa se incubó en cámara húmeda con 0.5% de CO₂ a 37°C.

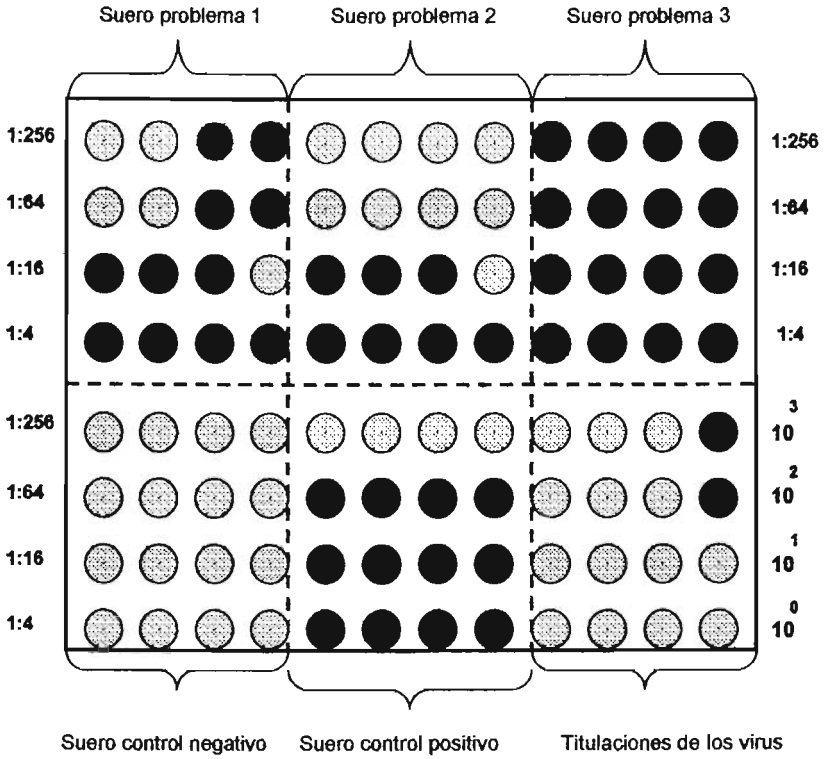
Después de 48 hrs. se desechó el sobrenadante y se le agregaron 100 µl. de PBS para enjuagarlos. El PBS se decantó. Se agregó acetona al 75% a cada pozo y se incubó a -20°C, durante 30 minutos.

Se desechó y se dejó secar la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregaron 50 µl. de conjugado a cada pozo y la placa se incubó en cámara húmeda con 0.5% de CO₂ a 37°C.

Después de 30 minutos, se desechó el conjugado y se enjuagaron los pozos dos veces con PBS y posteriormente dos veces en agua destilada.

La lectura se realizó en un microscopio invertido de luz UV y consistió en tomar como positivo al pozo que presente uno o varios focos fluorescentes y negativo al que no los presente (ESQUEMA 7).

ESQUEMA 7



Donde:

● Pozo positivo (con focos fluorescentes)

● Pozo negativo (sin focos fluorescentes)

7.2.1 MÉTODO PARA CALCULAR LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SN EN PLACA:

Para la interpretación de los resultados se uso el "Método de Reed & Muench" (Morilla, 1991), por ejemplo, usando del suero no.1, se realizó el siguiente cuadro:

Dilución	N	P	TN	TP	NA	%
1: 4	4	0	11	0	11	0
1: 16	3	1	7	1	8	12
1: 64	2	2	4	3	7	43
1: 256	2	2	2	5	7	71

Donde:

N = Número de pozos negativos

P = Número de pozos positivos

TN = Total de negativos. Se sumó acumulativamente hacia arriba.

TP = Total de positivos. Se sumó acumulativamente hacia abajo.

NA = Número acumulativo. Suma horizontal de TN y TP.

% = Porcentaje de focos fluorescentes encontrados. Se obtuvo por medio de una regla de tres: Si 8 (NA) es a 100%, a cuánto % equivale 1(TP)?

La fórmula para obtener el título del suero protector o dosis protectora es:

$$D_p = \frac{50 - dm}{DM - dm}$$

Donde:

dm = % menor

DM = % mayor

Por lo tanto:

$$D_p = \frac{50 - 12}{71 - 12} = 0.6$$

El resultado se multiplicó por 0.7 que es el logaritmo del factor de dilución y que es un número constante.

$$0.6 \times 0.7 = 0.42$$

A este resultado se le sumó el logaritmo de dilución que protegió más del 50%, que en este caso fue la dilución 1: 256 (log 256 = 2.40)

$$0.42 + 2.40 = 2.82$$

Por lo tanto, aquí se deduce que los anticuerpos del suero no. 1 tiene un título de protección que llega hasta la dilución 1: 282.

El resultado en U.I. se realizó de acuerdo *Smith et al, 1996*; en donde:

$$\text{U.I. de la muestra} = \frac{\text{título en dilución del suero problema}}{\text{título en dilución del suero referencia}} \times \frac{\text{título en UI del suero referencia}}{\text{referencia}}$$

Como se mencionó el título en UI para el suero referencia es de 2; por lo tanto:

$$\text{U.I. del suero no.1} = \frac{282}{125} \times 2$$

$$\text{U.I. del suero no.1} = \underline{4.5}$$

7.2 MÉTODO ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos en UI./ ml de los 40 sueros problema trabajados con las dos pruebas anteriores, se sometieron al estudio estadístico de Correlación de Pearson y Correlación de Spearman. Y fueron analizados mediante el paquete estadístico "NWA STATPAK" (López Baños B. y Chávez Gómez M. E., 1994).

8. RESULTADOS:

Al inicio del estudio, el personal de los Centros de alto riesgo firmó una carta de aprobación para participar en el mismo (**ANEXO 2**) y contestaron la encuesta mostrada en el **ANEXO 3**.

Se obtuvieron 40 muestras sanguíneas por punción de la vena humeral o braquial. En el laboratorio se separaron los sueros a trabajar, los cuales fueron:

- **28** sueros de personal vacunado contra la rabia que labora en los antirrábicos que pertenecen a la Jurisdicción Sanitaria Cuautitlán (Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli y Tultepec).
- **11** sueros de personal vacunado contra la rabia que labora en el laboratorio del Proyecto de Rabia del Centro Nacional de Microbiología Animal (CENID-Microbiología Animal) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).
- Adicionalmente se colectó el suero de una persona sin vacunación antirrábica, el cual fungió como el suero control negativo.

Tabla 1. Resultados obtenidos de los 40 sueros problema, y variables analizadas mediante RFFIT y seroneutralización.

Número de suero	RFFIT (UI/ml)	SN en placa (UI/ml)	Lugar donde labora	Meses laborando	Sexo	Edad en años	Días postvacunación
1	2,5	4,5	2	1095	1	62	1095
2	14,5	3,2	2	20	1	25	547
3	86,7	16,4	2	84	1	47	972
4	28,4	4,4	2	48	2	27	912
5	2,5	4,5	2	30	1	28	912
6	11,8	4,9	3	48	2	28	242
7	46,4	4,1	3	72	1	25	242
8	10	4,1	3	18	1	25	242
9	63,7	6,2	3	46	1	29	242
10	2,5	16,4	3	36	1	39	242
11	51,8	16,4	3	84	1	34	242
12	63,7	16,4	3	24	1	23	242
14	9,1	16,4	3	80	1	37	1002
15	6,7	3,4	3	84	1	31	242
16	415	16,4	3	21	1	24	242
17	65,45	5,9	3	72	1	54	242
18	49,1	16,4	3	120	1	36	1095
19	54,5	4,4	3	36	1	27	637
20	0,6	6,3	4	36	1	37	10460
21	5,4	3,4	4	72	1	40	5
22	90,9	16,4	4	84	1	41	180
23	32,7	3,2	4	48	1	28	180
24	3,5	3,2	4	4	1	31	24
25	7,3	4,8	4	3	1	22	24
26	86,4	4,3	4	3	1	23	24
27	24,5	16,4	4	84	1	44	150
28	38,2	4,6	4	24	1	24	150
29	5,7	1,9	1	24	2	25	730
30	12,7	4,9	1	30	2	25	880
31	2,9	4,4	1	24	2	28	575
32	12,7	3	1	348	1	60	1095
33	11,8	4,4	1	9	2	26	240
34	2,5	3,2	1	36	2	50	1095
35	11,8	4,4	1	204	2	40	365
36	12,7	3	1	2	2	35	15
37	63,6	16,4	1	1	1	24	10
38	1,8	3,2	1	1	1	58	13870
39	2,5	5,9	1	36	2	26	1095
40	12,7	3,1	1	3	1	24	90

La **Tabla 1** muestra los resultados obtenidos de los 40 sueros problema y sus variables analizadas, obtenidas de las encuestas realizadas a los donantes; en las columnas que corresponden al lugar donde labora y el sexo, se les asignó un número con el fin de correr el programa estadístico; como puede observarse en las siguientes líneas:

El lugar donde labora:

1. Cuajimalpa, 2. Cuautitlán, 3. Cuautitlán Izcalli y 4. Tultepec

El sexo:

1. Masculino y 2. Femenino

En la **Tabla 1** se observan 39 sueros que se trabajaron en el laboratorio; ya que el suero no.13 se eliminó de este estudio debido a que la muestra se encontraba muy hemolizada y no se pudo obtener su lectura. Los 39 sueros restantes como se muestra en la **Tabla 1** se encuentran con un nivel de protección mayor de 0.5 UI/ml. Sin embargo, por medio de la prueba de RFFIT el suero 20 presentó un título de 0.6 UI/ml, el cual pertenecía a un hombre de 37 años del Antirrábico de Tultepec; el cual no se había revacunado desde hacía cuatro años y el suero 29 que por medio de la prueba de SN en placa presentó un título de 1.9 UI/ml, el cual pertenecía a una mujer de 25 años del laboratorio del INIFAP la cual no se había revacunado desde hacía dos años. Ambos son los únicos que se acercaron al título de no protección de 0.5 U.I.

La **tabla 2** presenta las correlaciones de las variables con un grado de error del 0.05%, por lo tanto un grado de confiabilidad del 95%. El grado de asociación entre las variables se cuantificaron mediante el cálculo de un coeficiente o índice de correlación que se valora o rectifica por medio de una sencilla prueba de hipótesis, basada en la distribución o tabla T de Student (Daniels, 2002); la cual dio un valor de 2.0211; esto significa que si las variables correlacionadas presentan en la prueba T, valores mayores o iguales a 2.0211 son correlaciones reales o verdaderas; y si son valores menores a 2.0211 son correlaciones falsas.

Tabla 2. Resultados obtenidos a partir del estudio estadístico:

Variables relacionadas	Indice de correlación de Pearson	Prueba T (Pearson)	Significancia de la correlación (Pearson)	Indice de correlación de Spearman	Prueba T (Spearman)	Significancia de la correlación (Spearman)
1 - 2	.41	2.7676	verdadera	.38	2.4367	verdadera
1- 3	.19	1.1930	falsa	.27	1.6999	falsa
1 - 4	-.09	-.5522	falsa	.10	.6041	falsa
1 - 5	-.23	-1.4399	falsa	.002	1.4574	falsa
1 - 6	-.16	-.9864	falsa	-.25	-1.5814	falsa
1 - 7	-.11	-.7255	falsa	-.33	-2.078	verdadera
2 - 3	.18	1.1151	falsa	.24	1.5036	falsa
2 - 4	-.08	-.5071	falsa	.05	.3352	falsa a
2 - 5	-.36	-2.4041	verdadera	.53	3.1882	verdadera
2 - 6	.01	.0777	falsa	-.03	-.21263	falsa
2 - 7	-.13	-.8280	falsa	-.006	-.0403	falsa

Donde:

Variable 1 = Título de anticuerpos obtenido por la prueba de RFFIT.

Variable 2 = Título de anticuerpos obtenido por la prueba de SN en placa.

Variable 3 = Ubicación del Centro de Alto Riesgo donde labora la persona.

Variable 4 = Meses laborando en el Centro de Alto Riesgo.

Variable 5 = Sexo

Variable 6 = Edad

Variable 7 = Días postvacunación

Por lo tanto, las correlaciones encontradas fueron:

A) Con la Prueba de Pearson:

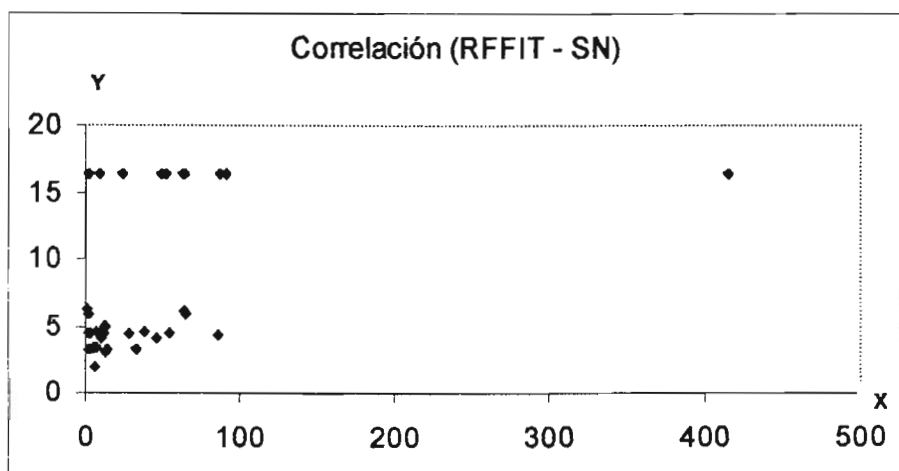
- Título de anticuerpos de la prueba de RFFIT con título de anticuerpos de la prueba de SN en placa, con un índice de correlación de: **.41**
- Título de anticuerpos de la prueba de SN en placa con el sexo, con un índice de correlación de: **.37**

B) Con la Prueba de Spearman:

- Título de anticuerpos de la prueba de RFFIT con título de anticuerpos de la prueba de SN en placa, con un índice de correlación de: **.39**
- Título de anticuerpos de la prueba de RFFIT con el tiempo postvacunación, con un índice de correlación de: **.33**
- Título de anticuerpos de la prueba de SN en placa con el sexo, con un índice de correlación de: **.53**

Estas correlaciones gráficamente se expresaron de la siguiente manera:

GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.1

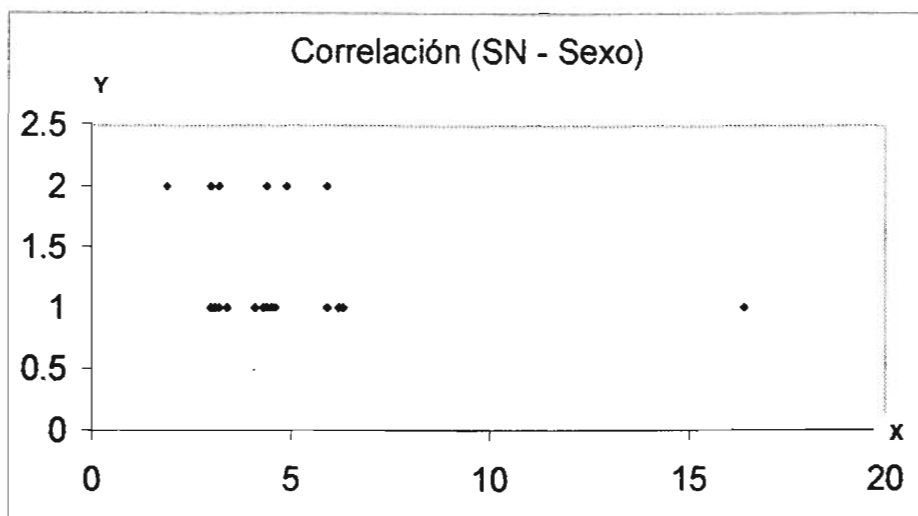


Donde:

Eje X = RFFIT

Eje Y= SN en placa

GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.2

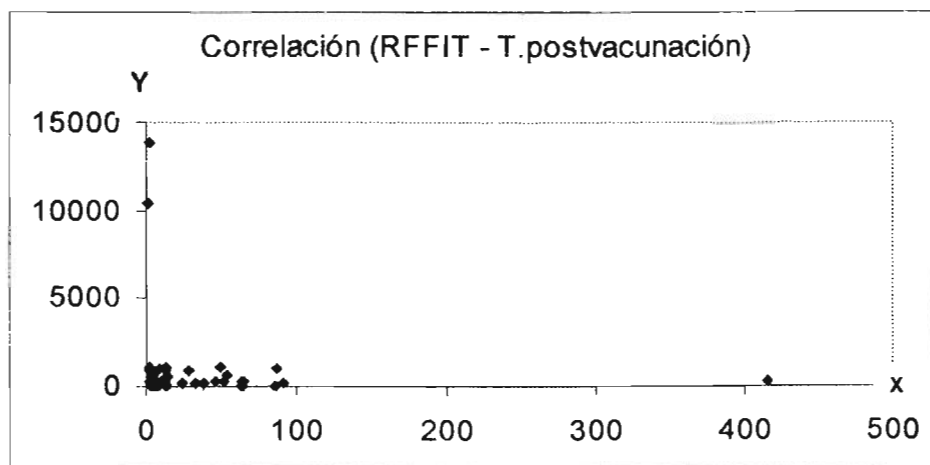


Donde:

Eje X = SN en placa

Eje Y= Sexo

GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.3



Donde:

Eje X =RFFIT

Eje Y= Tiempo post-vacunación

De los 40 encuestados en este estudio 39 reportaron haber sido vacunados o revacunados la última vez con la vacuna de células VERO, y solo uno, el suero no.38 que pertenecía a un hombre de 58 años del laboratorio del INIFAP, reportó haber sido vacunado hace 38 años con la vacuna DEV (embrión de pato).

De los 40 encuestados, 36 reportaron nunca se habían realizado el examen de titulación de anticuerpos contra la vacuna de la rabia y 4 personas que laboran en el laboratorio del Proyecto de Rabia del Centro Nacional de Microbiología Animal (CENID-MA), ya que ahí tienen el material para realizarse la prueba.

9. DISCUSIÓN:

Los sueros problema estudiados presentaron un nivel de protección óptimo (> 0.5 UI/ml), o sea, el 100% de las muestras cumplen con las recomendaciones que pide la OMS en la 13.a Reunión Interamericana a Nivel Ministerial en Salud y Agricultura (OMS-OPS, 2003).

La correlación encontrada con la prueba de RFFIT y la prueba de SN en placa es verdadera y aceptable, debido a que ambas pruebas estadísticas lo comprueban a través de la prueba T, con un valor mayor a 2.0211. En la **GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.1** los resultados se encuentran representados por arriba de las 0.5 UI/ml distribuidos en dos grupos de separación, y esto se debe a que en la prueba de SN en placa (eje de las Y), diez de los sueros estudiados (25%) se encuentran por arriba de la 16.4 UI/ml y 29 de los sueros estudiados (75%), se encuentran entre las 3 y 6 UI/ml. La distribución de los sueros representados con la prueba de RFFIT presenta una distribución más homogénea (eje de las X), o sea no se divide en grupos, ya que 38 de los sueros estudiados (97%), se encuentran entre los 0.6 y 90.9 UI/ml; con excepción de uno (3%) el suero número 16, que presentó el más alto nivel de anticuerpos contra rabia con un valor de 415 UI/ml. El suero número 16 pertenece a un hombre de 24 años de edad, que tiene 8 meses de haberse vacunado y que labora en el antirrábico de Cuautitlán Izcalli como técnico en manejo de animales; y su capacidad de seroconversión resultó ser la más alta y la(s) variable(s) que lo determinan posiblemente son factores intrínsecos, ya que individuos con edad, sexo, ocupación, área de trabajo y tiempo post-vacunación similares no alcanzaron tan altos niveles de anticuerpos como el de este individuo. Ribas et al, 2003, mencionó que así como la naturaleza diferencia a cada individuo, también lo dota

de diferentes mecanismos de respuesta inmune con respecto a los factores intrínsecos, extrínsecos y/o exógenos, ya sea por evolución o por genética; haciendo que cada individuo responda diferente a las vacunaciones o a la exposición del virus de la rabia.

Las diferencias entre los resultados de la prueba de RFFIT y la prueba de SN en placa pueden deberse a que en la técnica de RFFIT las diluciones son quintuples llegando hasta la dilución 1: 390625 lo que amplía su capacidad de detección de anticuerpos neutralizantes; mientras que la técnica SN en placa son diluciones cuádruples que solo llegan hasta 1:256, reduciendo su capacidad de detección de anticuerpos contra rabia de los sueros; y esto se observa al ver que la lectura no puede ir más allá de las 16.4 UI/ml, cuando en realidad el suero presenta un título mayor. La OMS en el año del 2003, recomendó reemplazar de la prueba de SN por la de RFFIT, debido a que esta última es más rápida y sensible. Lo cual se confirma por lo descrito por Meisner, 1997, donde comparó ambas pruebas; resultando que RFFIT era la prueba más rápida y menos tediosa que la de SN en placa. Afirmándose que hasta en la lectura, la prueba de RFFIT resulta mejor por que los campos permiten una cuantificación fácil y efectiva de los focos fluorescentes, ya que la prueba de SN en placa en lugar de ser una prueba cuantitativa es una prueba cualitativa, ya que se toma positivo al pozo que presente ya sea uno o incontables focos fluorescentes, lo cual es algo paradójico.

Cliquet et al, 1997, adaptó la prueba RFFIT a una placa de 96 pozos a la que llamó "prueba de anticuerpos virus neutralizantes fluorescentes" (FAVN); comparó los resultados de ambas pruebas encontrando un índice de correlación de 0.86. Dentro del desarrollo de esta tesis también, de forma adicional, se trató de estandarizar RFFIT en placa de 96 pozos, y se observó que la titulación de los sueros con cada prueba diferían ligeramente, por ejemplo el suero número 20 con RFFIT en lab-teck presentó un título de 0.6 UI/ml y con RFFIT adaptado a placa de 96 pozos presentó 0.2 UI/ml; lo cual en este caso representa que con la prueba de RFFIT en placa de 96 pozos, esta persona no está protegida e influye en la

decisión del reporte, ya que en este caso pasa a ser de un suero positivo en RFFIT desarrollada en lab-teck a un suero negativo con la prueba de RFFIT en placa de 96 pozos. Para los demás sueros no implicó mucho cambio, ya que estos se encontraban muy arriba de los 0.5 UI/ml y seguían siendo positivos a la presentación de anticuerpos contra rabia con la prueba de RFFIT en placa de 96 pozos, aunque ligeramente menor con respecto a los resultados obtenidos con la prueba de RFFIT desarrollada en lab-teck.

La lectura de la prueba de RFFIT en la placa de 96 pozos, al igual que en la prueba de SN en placa se dificultó debido a que el campo de observación es reducido y profundo.

En cuanto a costos, la prueba de RFFIT resulta costosa ya que cada laminilla (Lab-teck) por unidad cuesta aproximadamente \$150.00 pesos, sin embargo, la seguridad en sus resultados lo valen en comparación de la técnica de SN que resulta más barata. Por esta razón se intentó estandarizar la prueba de RFFIT en placa de 96 pozos. Sin embargo, la prueba de SN en placa y RFFIT adaptado a placa de 96 pozos, son métodos que arrojaron resultados válidos, aunque no tan precisos como la prueba de RFFIT en Lab-teck.

Cliquet et al, 2000, demostró que a través de la prueba ELISA se obtenían resultados confiables a partir de muestras contaminadas de animales muertos; ya que con estas muestras contaminadas la prueba de RFFIT y SN en placa se presentaban casos de "falsos positivos". ELISA es otro método que no desarrolló en esta tesis, pero puede ser otra opción de diagnóstico, con la cual posiblemente se obtienen resultados más certeros, según como lo mencionan Cliquet y colaboradores; ya que en el desarrollo de esta tesis el suero número 13 se descartó al estar muy bemozido, y tal vez con la prueba de ELISA si podría haberse leído.

La correlación que presentó la prueba de RFFIT y la prueba de SN en placa con respecto al sexo, ambas pruebas estadísticas (paramétrica y no paramétrica)

lo comprueban permitiendo notar que de los 39 sueros, 10 pertenecían a mujeres con una media aritmética de 10.28 UI/ml con la prueba de RFFIT y de 4.14 UI/ml con la prueba de SN en placa. Y los 29 sueros restantes pertenecían a hombres con una media aritmética de 46.67 UI/ml con la prueba de RFFIT y de 8.38 UI/ml con la prueba de SN en placa. La **GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.2** muestra en el eje de las "Y" dos grupos de separación donde 10 sueros que pertenecen a hombres se encuentran en el grupo de mayor seroconversión con 16.4 UI/ml, y otro segundo grupo que se encuentra entre los entre las 3 y 6 UI/ml; lo cual también se observó en la **GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.1**.

Por lo tanto en esta tesis, los hombres presentaron una mayor capacidad de seroconversión contra rabia con respecto al sexo femenino. Esto contradice lo ha mencionado por Briggs et al 1999, que mencionaba que las mujeres presentan una concentración de anticuerpos contra rabia 1.3 veces mayor a la seroconversión presentada por los hombres y Ribas et al 2003, que demostró que de 22 mujeres vacunadas solo una (4.54%) no seroconvirtió y de 17 hombres vacunados tres (17.65%) no seroconvirtieron. El sexo es un factor intrínseco, que como podemos ver la naturaleza provee al sexo femenino una mayor capacidad de producción de anticuerpos contra rabia con respecto a los hombres, posiblemente influenciado por factores genéticos en las mujeres; sin embargo, en esta tesis la variable sexo no favoreció a las mujeres al no existir una población significativamente grande y homogénea entre hombres y mujeres, lo cual influyó de manera marcada en los resultados de este trabajo. Mansfield et al, 2004, menciona que la variable sexo con respecto a la seroconversión contra la vacuna de rabia si es significativa en gatos; mientras que en perros el sexo no presenta efectos significativos.

La correlación encontrada con la prueba estadística no paramétrica de Spearman entre la prueba de RFFIT y el tiempo post-vacunación, es una correlación que no se encontró con la prueba estadística paramétrica de Pearson. La estadística no paramétrica se puede usar en sustitución de las prueba

paramétricas si se sospecha que por lo menos una de las variables con las que hemos trabajado no se ha tomado en cuenta y que si tiene relevancia para el estudio; y en este caso fue la variable de tiempo post-vacunación. Lord et al en 2001, mencionó que con el tiempo disminuyen los anticuerpos contra rabia quedando solo las células de memoria las cuales se activan al volver a estar en contacto con el antígeno rábico, ya sea por vacunación o exposición al mismo virus. Ceddia et al, 1982 y Mastroeni et al, 1994; mencionaron que el factor tiempo post- vacunación de la misma manera se relaciona, la edad de las personas y a todos los demás factores que forman una ola de respuestas diferentes en cada individuo. Lo mencionado anteriormente concuerda con la mayoría de los sueros, sin embargo, se encuentra el caso del suero número 38 que pertenecía a un hombre de 58 años que hacía 38 años no se revacunaba, y el cual presumiblemente presentó un nivel de anticuerpos satisfactorio para laborar en el laboratorio; lo cual hace pensar que la vacuna DEV (vacuna de embrión de pato), al menos el lote que él recibió, no se sabe cual, le confirió una seroconversión altamente satisfactoria tanto que después de casi 4 décadas aún los protege contra la rabia.

La **GRÁFICA DE DISPERSIÓN NO.3** nos muestra una distribución más homogénea ya que la gran mayoría de los encuestados se encontraban entre los 5 y 1095 días (3 años) post-vacunación; con excepción de dos sueros, el número 38 que es el más alejado en el eje de las "Y" y el número 20 con 4 años post-vacunación, el cual fue el suero con menor título de todos presentando 0.6 UI/ml.

Como ya se mencionó, es relevante conocer y notificar todos aquellos factores intrínsecos, extrínsecos y exógenos que aumenten o disminuyan la capacidad de responder contra agentes como la rabia, ya que de esta manera se sabrá como se puede comportar un individuo vacunado que este en contacto con el agente. Aunque lo importante es encontrar el nivel de protección adecuada contra esta enfermedad zoonótica; si no hay una seroconversión adecuada la tarea es encontrar los factores o variables que afectan a su respuesta inmune y si

es posible eliminarlos para así obtener una respuesta inmune aceptable y protectora. De no ocurrir así sería recomendable alejar a las personas que presenten una "inmunidad desconocida" ya que este grupo de personas responde por razones desconocidas con bajos o nulos niveles de anticuerpos contra rabia, y corren peligro al desempeñarse en Centros de alto riesgo donde se trabaja con este virus, aunque no se descarta que dicha susceptibilidad seguirá constante aún no trabajando en estas áreas de trabajo (Ribas et al en 2003; SSA, 1993).

La OMS y SSA a través de la Norma Oficial Mexicana recomiendan que el personal que labora en Centros de alto riesgo, debe realizarse un estudio de anticuerpos contra rabia tres semanas después de terminar el esquema de vacunación y en el caso que no se demuestre el nivel previsto de anticuerpos (>0.05 UI/ml), se aplica una dosis adicional, tres semanas después se debe repetir la prueba de titulación de anticuerpos. Si el resultado es todavía inferior, se recomienda que el individuo no labore en actividades con exposición al virus. Se debe efectuar la titulación de anticuerpos cada seis meses en personas que trabajan con el virus, como los laboratoristas, y cada año en el personal que manipula animales potencialmente transmisores como lo es el personal que labora en antirrábicos; en ambos casos, si los niveles de anticuerpos están por debajo de la cifra indicada, se aplicará otra dosis, repitiéndose el procedimiento de titulación para verificar su incremento. Pero en realidad el procedimiento a seguir no es así, porque ninguno de los individuos encuestados reportaron haberse realizado un examen de titulación de anticuerpos a las tres semanas post-vacunación y tampoco al año; lo cual es preocupante porque en realidad estos individuos no saben si quedaron realmente inmunizados a las tres semanas post-vacunación, y tampoco al año saben si se encuentran aptos para trabajar en contacto con el virus. A través de esta tesis se busca que el personal de alto riesgo tenga acceso en información de los exámenes de laboratorio que se realizan para conocer su título de anticuerpos contra rabia, los cuales presentan una confiabilidad arriba del 90% con pruebas como son SN y RFFIT, entre otras; para así revacunar al personal cuando lo requiera.

Se reporta que las vacunas de cultivo celular en algunas personas pueden tener efectos colaterales de tipo inmune, la gran mayoría de los encuestados en este estudio notificaron haber sido vacunados con la vacuna VERO y solo dos personas mencionan haber tenido dolor muscular y dolor de cabeza; pero si se presentó el caso del suero número 35, el cual reportó que su primera vacunación fue con la vacuna Fuenzalida sin reacciones adversas y en su revacunación con la vacuna VERO, presentó alergia a ésta vacuna provocándole una parálisis flácida que la mantuvo en cama por un mes; el médico al ver este padecimiento al siguiente año recomendó solo revacunarla con la vacuna de células diploides o de fibroblastos de pollo, aunque debido a su escasez se le ha aplicado la vacuna VERO a la mitad de la dosis y la otra mitad a los 15 días, respondiendo bien, sin presentación de reacciones adversas. Posiblemente, convendría que esta persona se revacune con los esquemas intradérmicos ya que son dosis mínimas, lo cual posiblemente reduzca su capacidad de responder negativamente a la vacuna, sin disminuir su capacidad de seroconversión.

10. CONCLUSIONES:

El conocer y estar informado de aquellas enfermedades que podemos adquirir a través de nuestro trabajo es fundamental para desarrollarnos eficaz y activamente como buenos profesionistas; ya que actualmente gozamos de un desarrollo científico y tecnológico que nos permite prevenir enfermedades como la Rabia.

Sin embargo, aún faltan unas cuantas piezas de este rompecabezas epidemiológico sobre todo en países donde la rabia es endémica como México. En nuestro país, en este año se han reportado cero casos de rabia en humanos, pero no se puede decir lo mismo de la rabia que aún existe en especies de vida silvestre como el murciélago hematófago o vampiro, los cuales son reservorios peligrosos e importantes para la supervivencia del virus de la rabia, la cual se transmite principalmente a los animales domésticos como son los perros y el ganado de los medios rurales; y en cualquier momento de manera incidental o accidental pueden encontrarse infectados por este virus y a su vez transmitirlo a un humano.

El poder encontrar a estos reservorios y erradicarlos, es una tarea difícil pero tal vez no imposible, y como Médico Veterinario es importante ser pieza clave del diagnóstico, prevención y tratamiento de la rabia.

El personal del Antirrábico de Cuautitlán, el Antirrábico de Cuautitlán Izcalli, el Antirrábico de Tultepec y del laboratorio del Proyecto de Rabia del Centro Nacional de Microbiología Animal (CENID-Microbiología Animal) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); presentaron un 100% de seroconversión contra rabia, con títulos mayores a 0.5 UI/ml.

10.1 RECOMENDACIONES

Siempre que sea posible, debe verificarse la presencia de anticuerpos neutralizantes de virus en personas vacunadas, empleando suero colectado mínimo a las 3 semanas después de la última dosis. Se recomienda la observación de las siguientes pautas en la administración de inyecciones de refuerzo (OMS 2003):

- Todas las personas que trabajan con virus rábicos vivos en un laboratorio de diagnóstico, investigación o producción deben someterse a prueba serológica para determinar la existencia de anticuerpos neutralizantes del virus rábico cada seis meses, y deben recibir inmunización de refuerzo cuando el título sea menor de 0.5 UI/ml. Las autoridades responsables deben asegurarse de que todo el personal esté debidamente inmunizado.

- Todas las otras personas expuestas a riesgos continuo a la rabia deben vacunarse y someterse a prueba serológica en busca de anticuerpos neutralizantes del virus rábico mínimo cada año; y deben recibir inmunización de refuerzo cuando el título sea menor de 0.5 UI/ml.

11. REFERENCIAS:

1. Acha P. N. y Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, Rev Esp Sal Pub 2001; 75 (3):263-264.
2. Alloworth A, Murray K, Morgan J. A human case of encephalitis due to a lyssavirus recently identified in fruit bats. Commun Dis Intell 1996; 20: 504.
3. Amasino CF, Garbi CJ, Amasino MF. La Rabia urbana en la Provincia de Buenos Aires Argentina: Origen-Evolución-Actualidad, Analect Vet 2002; 22(1): 17-31.
4. Anderem A & Underhill DM. Mechanism of phagocytosis in macrophages, Annual review of Immunology 1999; 17: 593.
5. Arai YT, Kuzmin IV, Kameoka Y, Botvinkin AD. New lyssavirus genotype from the Lesser Mouse-eared Bat (*Myotis blythi*), Kyrgyzstan. Emerg Infect Dis 2003; 9(3):333-337.
6. Badrane H, Bahloul C, Perrin P, Tordo N. Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. J Virol 2001; 75 (7): 3268-3276.
7. Baer, G.M. Rabia Urbana, Enfermedades Tropicales en México 1994. INDRE/SSA, 111-121.
8. Benjavongkulchai M, Kositprapa C, Limsuwun K, Khawplod P, Thipkong P, Chomchey P, Yountong C, Naraporn N, Bangjongkasaena Na Ayuthya A, Raksakate S, Samranwetaya P, Oka T, Ohkuma K, Hamasaki T y Wilde H, An immunogenicity and efficacy study of purified chick embryo cell culture rabies vaccine manufactured in Japan, Vaccine 1997; 17-18 (15): 1816-1819.
9. Briggs DJ, Drewssen DW, Nicolay U, Chin JE, Davis R, Gordon C, Banzhoff A. Purified Chick Embryo Cell Culture Rabies Vaccine: Interchangeability with Human Diploid Cell Culture Rabies Vaccine and comparison of one versus two-dose post-exposure booster regimen for previously immunized persons, Vaccine 2001; 19: 1055-1060.
10. Buckley RH. El sistema inmunitario y sus trastornos, Tratado de Pediatría 1998; vol.1. 15ª ed. La Habana: C Med, p. p. 703-735..

11. Centers for Disease Control (CDC) and Prevention. Human rabies prevention – United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), Weekly Rep 1999; 49 (RR-1): 1-21.
12. Chrisman S, Problemas neurológicos en pequeñas especies, Ed. Continental, México, 1997.
13. Cliquet F, Aubert M, Sagné L. Development of fluorescent antibody virus neutralization test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralizing antibody, *J Immunol Methods* 1998; (212): 79-87.
14. Cliquet F, Sagné L, Schereffer JL, Aubert MFA, ELISA test for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in fields, *Vaccine* 2000; 18, 3272 – 3279.
15. Corey L. Rabies. Principles of Internal Medicine. Mcgraw-Hill, Inc. New York. 1992, p.p. 832-836.
16. Crespo M del P. El diagnóstico viral por el laboratorio, *Colombia Médica* 2000; 3(131): 135-150.
17. Daniel, Bioestadística, 4ª ed, Ed. Limusa Wiley, 2002.
18. Desméziers E, Jacob Y, Saron M-F, Delpeyroux F, Tordo N, Perrin P. Lyssavirus glycoproteins expressing immunologically potent foreign B cell and cytotoxic T lymphocyte epitopes as prototypes for multivalent vaccines, *J Gen Virol* 1999; (80): 2343-2351.
19. Dietzchold B. Rhabdoviruses, *Fields Virology*, 3a ed., Raven Publishers, USA, 1996.
20. Dreesen DW. A global review of rabies vaccines for human use, *Vaccine* 1997; (15 suppl): S2-S5.
21. Echevarría JE, Avellón A, Juste J, Vera JM, Ibáñez C. Screening of Active Lyssavirus Infection in Wild Bat Populations by Viral RNA Detection on Oropharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol* 2001; 39(10): 3678-3683.
22. Foged C, Sundblad A, Hovagaard L, Targeting vaccines to dendritic cells, *Pharm Res* 2002; 19(3):229 –238.
23. Fooks AR, Brookes SM, Johnson N, McElhinney LM, Hutson AM. European bat lyssaviruses: an emerging zoonosis. *Epidemiol Infect* 2003; 131(3): 1029-1039.
24. Fraser GC, Hooper PT, Lunt RA. Encephalitis caused by a Lyssavirus in fruit bats in Australia. *Emerg Infect Dis* 1996; 2 : 327 - 331.

25. Gherardin AW, Scrimgeour DJ, Lau SC, Philips MA, Kass RB. Early rabies antibody response to intramuscular booster in previously intradermally immunized travelers using human diploid cell rabies vaccine, *J Trav Med* 2001; 3(8): 122-126.
26. Goel SK, Sharma S, Singh US. Antibody response to purified chick embryo cell vaccine in equines for production of equine rabies immune globulin. *Biologicals* 2003; 31: 233-236.
27. Guyatt KJ, Twin J, Davis P, Holmes EC, Smith GA, Smith IL, Mackenzie JS, Young PL. A molecular epidemiological study of Australian bat lyssavirus. *J Gen Virol* 2003; 84 : 485-496.
28. Hanlon CA, Niezgodza M, Morrill PA, Rupprecht CE. The incurable wound revisited: progress in human rabies prevention?. *Vaccine* 2001; 19: 2273-2279.
29. Harper DR. *Molecular Virology*, 2nd ed. Bios Scientific Publishers 1998; 139-140.
30. Hatz Ch. Viruses without boundaries, risk of rabies during travel, *Ther Umsch* 2003; 60 (10): 657-661.
31. Heaton PR, Johnstone P, McElhinney LM, Cowley R, O'Sullivan E, Whitby JE. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies related viruses. *J Clin Microbiol* 1997; 35(27): 62-2766.
32. Hemachudha T. Human rabies: clinical aspects, pathogenesis and potential therapy. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; 187: 121-143.
33. Hemachudha T, Laothamatas J, Rupprecht CE. Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostics challenges. *The Lancet Neurol* 2002; 2(1): 5- 20.
34. HogenEsch H, Thompson S, Dunham A, Ceddia M, Hayek M, Effect of age on immune parameters and immune response on dogs to vaccines: a cross-sectional study, *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 97 (1-2) : 77-85.
35. Jackson Alan & Wunner William, *Rabies*, Academic Press, 2002.
36. Kehrli ME, Burton JL, Nonnecke BJ, Lee EK, Effect of stress on leukocyte trafficking and immune responses: implications for vaccination, *Adv Vet Med* 1999; 41: 61 –81.
37. Khawplod P, Glueck R, Wilde H, Tantawichien T, Chomchey P, Thipkong P, Benjavongkulchai M, Sumboonanondha A, Prakongsri S, Siakasem A. Immunogenicity of purified duck embryo rabies vaccine (Lyssavac-N) with

- use of the WHO-approved intradermal postexposure regimen, *Clin Infect Dis* 1995; 3 (20): 646-51.
38. Khawplod P, Wilde H, Tepsumethanon S, Limusanno S, Tantawichien T, Chomchey P, Bungjongkasaena Na Ayuthaya A & Wangroonsarb Y. Prospective Immunogenicity Study of multiple Intradermal Injections of Rabies Vaccine in an Effort to Obtain an Early Immune Response without the use of Immunoglobulin, *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1562-1565.
 39. Kumate, Inmunidad, inmunización y vacunas, Hospital Infantil de México 1993.
 40. Kuzmin IV, Orciani LA, Arai YT, Smith JS, Hanlon CA, Kameoka Y, Rupprecht CE. Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from Central Asia: phylogenetic relationships according to N, P and G gene sequences. *Virus Res* 2003; 97(2):65-79.
 41. Larval E. La primera comunicación sobre rabia en Chile por el cirujano de la Armada don Pedro Videla Órdenes. *Rev Chil Infectol* 2003; 20: 102-104.
 42. Leder K, Weller PF, Wilson ME. Travel Vaccines and Elderly Persons: review of Vaccines Available in United States, *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1553-1566.
 43. Lesourd B & Mazari L. Nutrition and immunity in the elderly, *Proc Nutr Soc* 1999; 58 (3): 685 –695.
 44. López-Corella E, Jackson AC. Rabies without Negri bodies: detection of rabies virus at autopsy by immunohistochemistry and in situ hybridization, *Patolog* 1996, 34:39-41.
 45. López Ingunza R, Condori RE, Díaz Olivera A. Manual de procedimientos para el diagnóstico de la rabia, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud de Lima, Perú 2002, 1-46.
 46. Lord JM, Butcher S, Killampali V, Lascelles D, Salmon M. Neutrophil ageing and immunosenescence, *Merch Ageing Dev* 2001; 122 (14): 1521- 1535.
 47. Loza-Rubio E. Estudio de la variabilidad molecular del virus de la rabia en México. *Cien Vet* 1998; 8: 51-84.
 48. Loza-Rubio E, Pedroza-Requenés R, Montaña JA, Aguilar-Setién A. Caracterización con anticuerpos Monoclonales del Virus de la Rabia aislados de Fauna Doméstica y Silvestre de México, *Vet Mex* 1998; 29: 345-350.

49. Loza-Rubio E. Papel de la Biología Molecular en la investigación del virus de la Rabia en México, Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología Veterinaria INIFAP 2003.
50. Loza-Rubio E, Gómez Lim MA. De Pasteur a nuestros días: Batalla contra la rabia. *Cienc y Des* 2004; 26-33.
51. Loza-Rubio E. Técnicas para el diagnóstico de Rabia. Folleto Técnico no. 1, 500 vol. INIFAP 2004; 1-9.
52. Loza-Rubio E, Rojas AE, Banda RVM, Nadin-Davis S, Cortes GB. Detection of rabies virus RNA using primers specifically designed for a rabies strain circulating in an aerial host. *Epidem and Infect.* (aceptado) 2004.
53. Mackay IR, Frød S. *Advances in Immunology, New England J Med* 2001; 14 (345): 1042-1051.
54. Madhusaudana SN, Anand NP, Shamsundar R, Economical multi-site intradermal regimen purified chick embryo cell vaccine (Rabipur) prevents rabies in people bitten by confirmed rabid animals, *Int J Infect Dis* 2002; 6(3):210-214.
55. Mansfield KL, Burr PD, Snodgrass DR, Sayers R, Fooks AR, Factors affecting the serological response of dogs and cats to rabies vaccination, *Vet Rec.* 2004; 154(14): 423 – 426.
56. Meisner FL, Davis RD, Brown MK, Rupprecht CE, Rabies Serological Testing in Dogs and Cats Exported to Rabies-Free Countries: Does the Choice of Test Make a Difference?. *United States Animal Health Association*, 1997.
57. Meslin F-X. *Laboratory Techniques in rabies*, Geneva. WHO 1996.
58. MINSAP (Ministerio de Salud Pública). Rabia Humana: Descripción de un caso en California. La Habana, Cuba. *Unidad de Análisis y Tendencias en Salud* 2002; 88 (8); 1028-4346.
59. Morales MA, Ibarra L, Cáceres M. Morbilidad en perros en el sector urbano de la región metropolitana, Chile, *Ava Cienc Vet* 2002; 17: 28-33.
60. Morilla GA. "Inmunología Veterinaria", 1ª ed, Ed. Diana, México, 1991.
61. Nociti DL, Caramori Junior JG, de Jesus LP, Samara SI, de Araujo Junior A. Antibodies to the rabies virus in human working in a veterinarian hospital environment at the Universidade Federal de Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 355-358.

62. Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud (OMS-OPS). Consultation on intradermal application of human rabies vaccines, 1995.
63. Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud (OMS-OPS). Intradermal application of rabies vaccines, 2000.
64. Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud (OMS-OPS). Boletín: Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas, vol. XXIII, 2000.
65. Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud (OMS-OPS). Boletín: Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas, vol. XXXIII, 2001.
66. Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud (OMS-OPS), Orientaciones para la Vigilancia, Prevención y Control del Virus del Nilo Occidental, Boletín Epidemiológico, vol. XXIII, no.4, 2002.
67. Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud (OMS-OPS). 13a Reunión Interamericana a Nivel Ministerial en Salud y Agricultura, 2003.
68. Ortiz Solis RG, Roy Rodriguez K. La Rabia, Normatividad y Legislación Veterinaria en Centros de Control Canino y Antirrábicos del Distrito Federal, TESIS de licenciatura FESC, 2002.
69. Otero J. Historia de la vacunación contra la rabia, Portal veterinario del Perú <http://www.visionveterinaria.com/historia/05ene2002.htm>
70. Paolazzi CC, Pérez O y De Filippo J. Rabies Vaccine, Mol Biotech 1999; 11: 137-147.
71. Pastoret PP. Handbook of vertebrate Immunology. Academic Press, 1998.
72. Pérez OA. Historia veterinaria: Verdades y mitos sobre lo que han hecho los Veterinarios, ASARHIVE 2003; San Nicolás 1436, (1407) Buenos Aires. República Argentina.
(<http://www.asarhive.com.ar>) ó (<http://webs.sinectis.com.ar/oaperez>)
73. Pleasure SJ, Fischbein NJ. Correlation of clinical and neuroimaging findings in cases of rabies encephalitis. Arch Neurol 2000; 57: 1765 – 1769.
74. Quintero García G. Estudio Epidemiológico de la Rabia en el Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México del año 1998 al 2002, TESIS de licenciatura FESC, 2004.

75. Ribas M de los A, Rebull A, Torres G, Álvarez M, Morier L, Tejero Y, García D, Rodríguez C. Detección de anticuerpos antirrábicos en personal de riesgo con el empleo de la técnica de neutralización por reducción del número de placas. *Rev Cub Med Trop* 2003; 2 (55): 91-95.
76. Rojas AE, Loza-Rubio E, banda RVM, Hernández BE. The use of PCR to determine the stability of rabies virus genome in brains kept at room temperature. *J Vet Diagn Invest.* (enviado) 2004.
77. Salyers A & Witt D, "Microbiology- diversity, disease and environment", Fitzgerald Science Press Inc., p.p.269- 283, 2001.
78. Sánchez HM, Educación de la población en la comunidades rurales del Municipio de Pachuca, Hidalgo durante 6 meses del 2002, TESIS de licenciatura UNAM, 2002.
79. Secretaría de Salud (SSA). Instructivo Para la Atención del Paciente Expuesto a Rabia. Grupo Interinstitucional de Medicina Preventiva, 1992.
80. Secretaría de Salud (SSA). Programa para la prevención y control de rabia. Informe anual, 1996.
81. Secretaría de Salud (SSA). NORMA OFICIAL MEXICANA-011-SSA2 Para la Prevención y Control de la Rabia. Secretaría de Salud, 1993;19 - 20.
82. Secretaría de Salud (SSA). Manual para la vigilancia epidemiológica, 1999.
83. Secretaría de Salud (SSA). Programa de Acción: Rabia. Informe anual, 2001.
84. Shimazaki Y, Inoue S, Takahashi C, Gamoh K, Etoh M, Kamiyama T, Makie H. Immune response to Japanese rabies vaccine in domestic dogs, *J vet med B Infect Dis Vet Public Health* 2003; (2): 95-98.
85. Smith JS, Yager PA, Baer GM. Laboratory techniques in rabies, 4a ed., Ed. M Kaplan and H Kopowski 1996: 181-191.
86. Schneider MC, Santos-Burgoa C. Tratamiento contra la rabia humana: un poco de su historia. *Rev Salud Pública de Sao Paulo, Brasil* 1994, 6 (28).
87. Tizard I. Inmunología Veterinaria, Ed. Mc Graw Hill Interamericana, 1996 y 2000.
88. Thraenhart O, Kreuzfelder E, Hillebrandt M. Long term humoral and cellular immunity after vaccination with cell culture rabies vaccines in man. *Clin. Immunol Immunopathol* 1994; 71: 287-292.

89. Trigo Tavera FJ. Patología Sistémica Veterinaria. 3ª ed, Ed. Mc Graw Hill Interamericana, 1998.
90. Universidad Veracruzana, Instituto de Salud Pública, Sociedad Veracruzana de Salud Pública, Diplomado en Administración Hospitalaria, Epidemiología Básica, Clínica y Hospitalaria, 2004.
www.uv.mx/isp/diplomado/Epidemiología%20Básica.ppt
91. Valero G. Diagnóstico Veterinario, 1ª ed, Sociedad de Médicos Veterinarios, 1993.
92. Van Loveren H, Amsterdam JG, Vadebriel RJ, Kimman TG, Rumke HC, Steerenberg PS, Vos JG. Vaccine-induced antibody responses as parameters of influence of endogenous and environmental factors, Environ Health Perspect 2001; 109 (8): 757-764.
93. Vargas Pino F. México, Líder en América Latina en el combate contra la rabia. Comunicado de Prensa No. 046. 04/Marzo/2004.
<http://www.salud.gob.mx/ssa>
94. Velander W, Lubon H, Drohan W. Producción de fármacos a través de animales transgénicos, Investigación y Ciencia 1998;246: 547-556.
95. Vodopija R, Lafont M, Baklaić Z, Ljubicić M and Vodopija I. Persistence of humoral immunity to rabies 1100 days after immunization and effect of single booster dose of rabies vaccine. Vaccine 1997; 5 (15): 571-574.
96. Yang EV, Glaser R. Stress-associated immunomodulation and its implications for responses to vaccination. Expert Rev Vaccines 2002; 1 (4): 453 – 459.
97. Zuckerman AD, Banatuala JE, Pattison JR. Principles and Practice of Clinical Virology, 4ª ed., Ed. Wiley, England, 2000.

50% Serum End-point Titers Corresponding to the Numbers of Fluorescing Foci (calculated by the Reed-Muench Method)

Number of Fields with Fluorescing Foci/Total fields

ANEXO 1

Serum dilution

1:5 1:25	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	14	11	10	9	9	8	7	7	6	5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	>5

1:25 1:125	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	56	54	50	50	45	42	40	36	33	30	25	25	19	17	16	14	13	13	13	12	--

1:125 1:625	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	280	270	250	250	230	210	200	180	170	145	135	120	95	85	75	70	70	65	60	60	--

1:625 1:3125	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	400	1300	1300	1200	1100	1000	1000	900	900	800	825	540	480	440	390	360	340	320	320	250	--

1:3125 1:15625	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	7000	6800	6100	6000	5700	5400	5100	4600	4200	3800	3420	3200	2400	2400	1900	1800	1600	1600	1500	1500	--

1:15625 1:78125	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	34900	33489	31950	30313	28571	26711	24747	22852	20412	1888	16625	14900	12600	10000	10000	9500	8500	8000	7500	7500	--

1:78125 1:390625	0/20	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	9/20	10/20	11/20	12/20	13/20	14/20	15/20	16/20	17/20	18/20	19/20	20/20
	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
	17492	16748	15970	15189	14287	13381	12475	11569	10715	9811	8905	8000	7100	6200	5300	4500	3724	3029	2326	1623	--

ANEXO 2

CARTA DE APROBACIÓN DEL DONANTE PARA SU TOMA DE MUESTRA

La rabia es la única infección neurológica que se puede prevenir por vacunación después de una exposición al virus.

En 1990 la rabia era un serio problema de salud pública en la mayoría de los países de Latinoamérica. Los países que más notificaban casos humanos en números absolutos eran México y Brasil, con 69 y 73 defunciones. El Sistema Regional de Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas (SIRVERA) en el año 2001 reportó que los países de las Américas notificaron 60 casos de rabia humana, lo que representó una reducción de 7,7% en relación al año anterior y del 59,7% comparado con el promedio de los últimos diez años; donde la preponderancia de casos humanos fueron en Brasil, Ecuador, Haití, Bolivia y El Salvador, ya que en México, solo fueron siete los casos de rabia humana. Pero hoy en día México ha logrado el control epidemiológico de la rabia en humanos, al no presentarse ningún caso en 2002 y sólo uno durante 2003.

JUSTIFICACIÓN:

Esta carta se realizó bajo el REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE INVESTIGACIÓN PARA LA SALUD la cual afirma que toda investigación se ajustará a los principios científicos y éticos que la justifiquen, en la que el ser humano que sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar.

Con los resultados de esta investigación se busca impulsar a los municipios de este y otros estados a que el personal de alto riesgo de los antirrábicos, se les practique titulación de anticuerpos seroneutralizantes contra rabia, lo cual asegura la protección de sus trabajadores.

Los grupos de población de alto riesgo, se clasifican en:

- d) Personas de laboratorios, industrias o empresas que trabajan con el virus de la rabia.
- e) Personas de centros de trabajo dedicados a la atención de animales potencialmente transmisores de rabia (**Centros Antirrábicos** y Clínicas Veterinarias)
- f) Profesionales y personas que manejan regularmente animales tanto domésticos en estabulación o manejo intensivo, como silvestres en Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre.

La presencia de anticuerpos neutralizantes en el suero del personal de alto riesgo que han recibido inmunización antirrábica se relaciona con la protección contra la enfermedad, por esta razón, su determinación es de gran utilidad para la evaluación del estado inmune del personal de riesgo, de los individuos previamente vacunados por haber sido agredidos por un animal rabioso y para realizar estudios seroepidemiológicos.

OBJETIVO:

Obtener título de anticuerpos del personal de alto riesgo que labora en los antirrábicos de los municipios de Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli y Tultitlán, lo cual dará referencia del nivel de protección de éstas personas por medio de la prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (RFFIT).

PROCEDIMIENTO A SEGUIR CON LA MUESTRA DE SANGRE :

Se obtendrá suero sanguíneo. El suero se someterá a la prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (RFFIT); que consiste en trabajar su suero en diluciones de 1:5 a 1:390625, se incubará con con el virus de rabia sobre células de riñón de hamster bebé cultivadas en el laboratorio. La determinación de anticuerpos del suero se observará en un microscópio de luz UV; donde su nivel de protección estará indicado por una reducción de focos fluorescentes en células infectadas con el virus de la rabia, observando hasta que dilución es capaz de proteger a las células del virus. Y con el método "Reed y Muench" se calcula su nivel de anticuerpos expresados en UI, y con este procedimiento usted sabrá si su título de anticuerpos esta por arriba de las 0.5 UI/mL. que representa la protección óptima según la OMS.

FIRMA DE ACEPTACIÓN:

A través de la presente yo C. _____, que laboro en el antirrábico perteneciente al municipio de _____, doy mi consentimiento por escrito para la investigación que se realizará con la muestra de sangre que dono con la plena garantía de saber la justificación, los objetivos y el procedimiento de la investigación. Teniendo también la seguridad de recibir respuesta a cualquier pregunta y/o aclaración a cualquier duda acerca de los riesgos y beneficios que se relaciona con esta investigación, en la cual se me ha incluido.

Firma del donante

fecha

Agradeciendo su colaboración: pMVZ. Fabiola Murrieta Téllez Girón tesista de la FES- Cuautitlán y del Proyecto de Rabia del CENID – Microbiología – INIFAP.

ANEXO 3

Titulación de anticuerpos en personal de alto riesgo de los antirrábicos
que pertenecen a la Jurisdicción Sanitaria Cuautitlán.

FORMULARIO A CONTESTAR

Favor de responder de forma concreta.

No. de muestra: _____

Fecha de toma de muestra: ____/____/200__

Nombre: _____

Edad: ____ años Sexo: F M

Lugar donde labora: _____

Tiempo en que ha laborado en este lugar: _____

Ocupación: _____

No. de exposiciones comprobadas por accidente de trabajo (positivas a rabia) :

0 1 2 3 más de _____

¿Cuál fué ese accidente?

Mordedura Lesión con objeto punzo cortante Contacto a mucosas

No. de exposiciones no comprobadas: 0 1 2 3 más de _____

¿Cuál fué ese accidente? (donde no se estudio al animal sospechoso)

Mordedura Lesión con objeto punzo cortante Contacto a mucosas

Fecha de su última vacunación contra rabia:

¿Tuvo alguna reacción a la vacuna? SI NO

En caso de que la pregunta anterior sea afirmativa, subraye que reacciones fueron:

Dolor de cabeza

Fiebre

Dolor muscular

Dolor en articulaciones

Inflamación de ganglios

Respiración agitada

Enrojecimiento y dolor en sitio de la inyección

Inflamación en sitio de la inyección

¿Se ha realizado un exámen de titulación de anticuerpos para ésta vacuna?

SI NO

En caso de que la pregunta anterior sea afirmativa, mencione el resultado y la técnica de laboratorio por la que se realizó:

