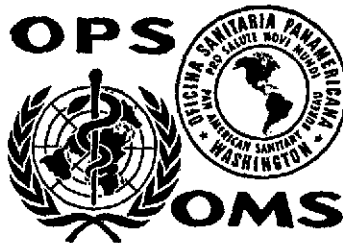


PRIMER INDEXED

SEMINARIO INTERNACIONAL
SOBRE RABIA
PARA LAS AMERICAS

24-29 Septiembre 1967

Ramos Mejia (Buenos Aires), Argentina



CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS
ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS

Casilla de Correo 23

Ramos Mejia (Buenos Aires), Argentina

**PRIMER
SEMINARIO INTERNACIONAL
SOBRE RABIA
PARA LAS AMERICAS**

24-29 Septiembre 1967

Publicación Científica No. 169

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD

Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

525 Twenty-third St., N. W.

Washington, D.C. 20037- Estados Unidos

NOTA EDITORIAL

Los conceptos expresados en esta recopilación representan las opiniones de los distintos autores y no, necesariamente, la opinión de la Organización Panamericana de la Salud.

S U M A R I O

INTRODUCCION

PARTE I - Trabajos presentados

- Capítulo I - Situación de la rabia en el mundo, por Martín Kaplan y M. Shiffman.
- Capítulo II - Metas futuras en la investigación de la rabia, por J. Campbell, H. Koprowski, E. Kuwert, F. Sokol y T. Wiktor.
- Capítulo III - Patogénesis de la rabia, por H. N. Johnson.
Patogénesis de la rabia en murciélagos, por G. M. Baer.
Presencia de virus rábico en órganos de murciélagos hematófagos, por R. A. da Silva y A. M. de Souza.
- Capítulo IV - Epidemiología de la rabia en bovinos y en murciélagos, por P. Acha.
Conceptos nuevos sobre la epidemiología y el control de la rabia, por J. H. Steele.
Comentario sobre el control de la rabia, con especial referencia a México, Uruguay y Venezuela.
- Capítulo V - Caracterización del virus rábico y diagnóstico, por P. Atanasiu.
Respuesta de células "in vitro" a infección rábica, por M. V. Fernandes.
- Capítulo VI - Rabia en animales silvestres, por R. K. Sikes.
- Capítulo VII - Prevención de la rabia (Vacunas), por K. Habel.
Vacuna de cerebro de ratón lactante, por E. Fuenzalida.
Vacunas de cultivo de tejido, por M. K. Abelseth.
Purificación de vacunas antirrábicas, por O. P. Larghi.
- Capítulo VIII - Infección rábica latente, por O. Soave.

PARTE II - Informes de los países.

PARTE III - Informe final.

- ANEXOS — 1. - Programa.
2. - Nómima de consultores.
3. - Nómima de participantes.
4. - Recomendaciones del Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos.
5. - Instrucciones para el tratamiento de mordeduras y contactos (OMS).
6. - Método de preparación de la vacuna antirrábica en cerebro de ratón lactante (Nota Técnica CPZ).

INTRODUCCION

La Organización Panamericana de la Salud ha venido colaborando, en los últimos años, con los Gobiernos del Hemisferio en sus actividades de prevención y control de la rabia. Fue así como se celebró el Curso de Técnicas de Laboratorio en Rabia realizado en colaboración con el Gobierno de Venezuela, en la ciudad de Caracas, en Agosto de 1957. En esa oportunidad se adiestró personal de laboratorio de casi todos los países del Continente, habiéndose logrado establecer, por intermedio de los mismos, servicios de diagnóstico y de producción de vacunas antirrábicas en un gran número de institutos de Latinoamérica. Los avances científicos que se han logrado en los últimos 10 años en la lucha contra esta enfermedad, tanto en los aspectos de laboratorio como en los conocimientos epidemiológicos y métodos de control, dieron motivo para realizar una nueva reunión de carácter internacional, en la que mediante la colaboración de un grupo de especialistas de renombre mundial en la materia, se hiciera una revisión de los últimos adelantos en la investigación y control de la rabia.

Este fue el motivo principal del Seminario Internacional Sobre Rabia para las Américas, que se llevó a cabo en el Centro Panamericano de Zoonosis, Ramos Mejía (Buenos Aires), Argentina, del 24 al 30 de Setiembre de 1967, con la colaboración del Gobierno de la Argentina.

Uno de los principales objetivos de esta reunión era obtener el máximo de intercambio de información sobre la situación de la rabia en los países del Continente entre los profesionales que trabajan en la lucha contra esta enfermedad, y cuya experiencia permitiría

obtener recomendaciones prácticas y soluciones efectivas a los problemas que se afrontan en el control de esta zoonosis. Los temas principales abordados fueron: caracterización del virus rábico, patogénesis, diagnóstico de la rabia, vacunas de uso humano y veterinario, epidemiología, tratamiento humano, prevención y control. Además, se cubrieron otros aspectos relacionados con la acción de los servicios de salud pública veterinaria en la prevención y control de la rabia canina y metas futuras en la investigación de esta enfermedad, mediante la más amplia discusión de los asistentes.

Participaron en el Seminario 19 profesionales de Argentina, 38 de diversos países latinoamericanos, 3 observadores designados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 20 observadores de Argentina, Brasil, Canadá y Francia, así como 22 consultores de la Organización Mundial de la Salud, de la Oficina Sanitaria Panamericana y del Centro Panamericano de Zoonosis. Los asistentes aportaron información actualizada sobre la situación de la rabia en sus respectivos países, lo cual dio como resultado un excelente intercambio de información entre los participantes y los consultores. En esta publicación encontrarán los lectores tanto los trabajos presentados como la transcripción de las presentaciones orales y de las discusiones.

Con gran satisfacción presentamos los resultados de este Seminario, cuyo éxito se debió, en gran medida, a la activa participación y contribución de todos los asistentes.

PARTE I

TRABAJOS PRESENTADOS



CAPITULO I

LA SITUACION DE LA RABIA EN EL MUNDO.

*MARTIN M. KAPLAN y MORRIS SHIFFMAN **

La Unidad de Salud Pública Veterinaria de la Organización Mundial de la Salud viene realizando, desde 1959, encuestas anuales sobre la situación de la rabia en el mundo. El cuestionario de 1966 es el octavo de una serie de formularios dirigidos a las autoridades gubernamentales y personas involucradas en trabajos de investigación, diagnóstico y prevención de la rabia. La encuesta de 1966 fue realizada por medio de un cuestionario simplificado, preparado para complementar y ampliar la información obtenida en la Encuesta Mundial de Rabia de 1965. En esta charla comentaremos tanto los datos obtenidos en 1965 como los de 1966, y presentaremos los cambios importantes ocurridos en la situación de la rabia en el mundo durante ese período y hasta el momento.

El cuestionario de 1965 fue remitido a 128 países, territorios y otras sub-unidades gubernamentales. Ochenta y cinco cuestionarios fueron contestados. El cuestionario de 1966 fue enviado a los mismos países y hemos recibido 61 respuestas.

Los resultados de la encuesta de 1966 serán enviados a todos los que completaron el cuestionario, dentro de los próximos meses. Ahora trataré solamente los aspectos más importantes en una forma global.

El cuestionario.

El cuestionario de 1966, en su forma simplificada, provee información relevante, permite su comparación con los resultados de encuestas previas y la actualización de ciertos puntos. La lista de los laboratorios, institutos, servicios médicos y veterinarios que proveyeron la información en cada uno de los países no figura en este informe; sus nombres y direcciones pueden encontrarse en el documento de la OMS "VIII Encuesta Mundial de Rabia" que aparecerá en octubre de este año.

PREGUNTA 2.

La presencia o ausencia de rabia en los diferentes países en 1965 y 1966 está dada en la Lista I.

* Unidad de Salud Pública Veterinaria, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

Lista I (a)

Los siguientes países han respondido que la rabia estaba presente en 1965:

AFRICA

Alto Volta, República de
 Argelia
 Camerún
 Chad
 Congo, República del
 Congo, República Democrática del
 Costa del Marfil
 Dhomey
 Etiopía
 Gabón
 Guinea
 Kenia
 Madagascar
 Malawi
 Marruecos
 Mozambique
 Nigeria
 República Árabe Unida
 Sierra Leona
 Togo
 Túnez

AMERICA

Argentina
 Brasil
 Canadá
 Chile
 Costa Rica
 Cuba
 Dominicana, República
 El Salvador
 Estados Unidos de América
 Guayana
 Honduras, Brit.¹

México
 Panamá
 Perú
 Uruguay
 Venezuela

ASIA

Burma
 Cambodia
 Ceilán
 Filipinas
 India
 Irán
 Iraq
 Israel
 Jordania
 Kuwait
 Líbano
 Malasia, Fed.²
 Pakistán
 Tailandia
 Turquía
 Vietnam

EUROPA

Alemania, República Federal de
 Bulgaria³
 Checoslovaquia
 Dinamarca
 España
 Grecia
 Groenlandia
 Polonia
 Rumania

¹ Se sospecha que la rabia, esté presente.

² En 1965, la rabia fue introducida en Malasia, en el estado de Kelantan.
 Ver detalles en el documento Rabia/Inf./66.17.

³ Sólo un caso en una vaca, registrado en 1965.

Además de los anteriores, los siguientes países declararon presencia de rabia en 1966:

AFRICA

Ghana
 Rodesia
 Senegal

Uganda

AMERICA

Colombia
 Guatemala

ASIA	Bélgica ²
Corea	Luxemburgo ³
EUROPA	Yugoeslavia
Austria ¹	

Lista I (b)

Los siguientes países han indicado que *no* existía rabia en su territorio en 1965 y 1966:

AFRICA	Sarawal
Botswana	Singapur
Lesotho	EUROPA
Somalia Francesa	Chipre
AMERICA	Feroé, Islas
Barbados	Finlandia
Guadalupe	Francia
Guayana Francesa	Gibraltar
Martinica	Irlanda
Montserrat	Italia
San Vicente	Gran Bretaña
ASIA	Holanda ⁴
Brunei	Noruega
China, República de	Portugal
Hong Kong	Suecia
Japón	Suiza ⁵
Laos	OCEANIA
Malasia, Sabah	Australia
	Fiji
	Nueva Caledonia y Dependencias
	Nueva Zelanda

Se notificó rabia en 1965 pero no en 1966 en los siguientes países:

ASIA	EUROPA
Kuwait	Bulgaria
Malasia	Dinamarca

Cambios significativos en la situación de la rabia — Se solicitó a los interrogados que manifestaran si la rabia, presente en sus países, era de reciente introducción. Los siguientes países declararon introducción de la rabia en 1965:

¹ En 1966 la rabia fue introducida en Austria. Para detalles ver el documento Rabia/Inf./66.20.

² En 1966, la rabia fue también introducida en Bélgica. Para detalles ver los documentos Rabia/Inf./66.18 y 66.22.

³ En octubre de 1966 la rabia fue introducida en Luxemburgo. Para detalles ver el documento Rabia/Inf./66.21.

⁴ Un perro importado en 1965 murió de rabia más de tres meses después. No se ha notificado propagación de la enfermedad.

⁵ La rabia fue introducida en Suiza en marzo de 1967. Para detalles ver el documento Rabia/Inf./67.23.

Bulgaria: Un caso de rabia bovina se observó en 1965. No se han notificado más casos en 1966.

Costa del Marfil: Se registraron 24 casos de rabia en perros en 1965.

Dinamarca: La rabia fue introducida en 1964 en el sur de Jutlandia (ver Bull. Off. Int. Epiz., 65: 21-29, 1966). El informe más reciente indica que, en este momento, no hay rabia en Dinamarca.

Gabón: En marzo de 1965, 5 perros, 2 gatos y 1 mono desarrollaron rabia después de haber sido mordidos por un perro vagabundo rabioso. El incidente tuvo lugar en el hospital fundado por el Dr. Schweitzer en Lambarené. También se descubrieron 2 perros rabiosos en Fougamon y Moanda.

Kuwait: El primer caso de rabia se notificó en 1963. En 1965, hubo 3 perros rabiosos. Ningún caso ha sido informado en 1966.

Malasia: Tres personas fueron mordidas por perros rabiosos en 1965. Este incidente ha sido descrito en el documento de la OMS Rabia/Inf./66.17. No hubo casos posteriores notificados en el cuestionario de 1966.

Países Bajos: Los Países Bajos estuvieron libres de rabia hasta agosto de 1965. En esa época se trajo un perro de Ceilán, el cual desarrolló síntomas clínicos de rabia el 5 de diciembre del mismo año. El perro murió 3 días más tarde sin haberse notificado propagación de la enfermedad a otros animales. No hubo personas mordidas. En la encuesta de 1966 no se informan otros casos de rabia.

Los siguientes hechos importantes tuvieron lugar en 1966:

Austria: En mayo de 1966 se introdujo rabia en zorros al norte del Tirol, zona de Austria, proveniente de Alemania Occidental. El hecho se describe en forma más completa en el documento de la OMS Rabia/Inf./66.20. Todo el territorio austriaco estuvo libre de rabia entre 1959 y 1965, año en que se diagnosticaron 4 casos en zorros salvajes que venían de zonas infectadas hacia el norte. Las áreas afectadas son adyacentes a la frontera con Alemania.

Bélgica: La rabia fue introducida en Bélgica en junio de 1966 y ha alcanzado ya serias proporciones. Hasta julio de 1967 se habían notificado 174 casos de rabia en animales, 145 de los cuales corresponden a zorros. La enfermedad se propaga tanto a través de la frontera con Alemania como por la frontera con el Gran Ducado de Luxemburgo. No se han observado casos en perros en las regiones afectadas. También se diagnosticó la enfermedad en un perro adulto, 18 meses después de haber sido traído desde Africa. El animal había sido vacunado varias veces durante ese tiempo. No se conocen mordeduras de personas o animales atribuibles a este caso.

Estados Unidos: El Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles informó 4.198 casos de rabia, confirmados por laboratorio, en 1966. El 57% de los casos de rabia animal correspondía a zo-

rrinos y zorros. Hubo una muerte humana, un niño de 10 años, mordido por un zorrino. Es interesante observar el hecho de que sólo se notificaron 412 perros rabiosos.

Groenlandia: Un extenso brote de rabia en zorros y renos ocurrió en el verano de 1966. El hecho fue seguido por un brote de la enfermedad en perros no vacunados.

Guam: El primer caso de rabia conocido fue notificado en marzo de 1967, y desde entonces la situación ha evolucionado rápidamente. Ha habido por lo menos 5 casos confirmados en perros y una cantidad de exposiciones humanas. El reservorio aparente de la enfermedad son los perros salvajes que habitan las zonas boscosas y selvas densas de la isla. Se piensa que la enfermedad fue introducida de algún lugar del sudeste de Asia y ahora se ha establecido entre la población de perros salvajes de la isla. Se ha iniciado una campaña general de control.

Luxemburgo: Este pequeño país estuvo libre de rabia desde 1908. En octubre de 1966 fue matado un zorro que merodeaba por los alrededores de una granja a unos 10 Km. al este de la ciudad de Luxemburgo. Los exámenes subsiguientes revelaron infección rábica. Desde entonces ha habido 27 casos en zorros y uno en bovino.

Suiza: La encuesta de 1966 indicaba que la rabia no estaba presente en Suiza. Sin embargo, a comienzos de 1967, la situación cambió. El primer hallazgo de rabia ocurrió en un zorro matado en el cantón de Schaffhausen, en la frontera con Alemania. Subsiguientemente se descubrió otro caso de infección en zorro en la misma zona del norte de Suiza. Según las informaciones más recientes, la enfermedad se ha propagado hacia el sur del río Rin.

Tailandia: La situación de la rabia en Tailandia parece haber alcanzado proporciones importantes. Es interesante notar que la respuesta de este país al cuestionario de 1966 indicaba 19 muertes humanas por rabia. Este dato difiere bastante del obtenido a través de los veterinarios pertenecientes a las tropas norteamericanas que prestan servicio en Tailandia, los cuales estiman que, en 1966, fueron entre 400 y 500 las personas que murieron de rabia. Aunque la principal fuente de infección son los perros vagabundos, se ha aislado virus rábico de murciélagos *Cynopterus brochyotis* capturados en ese país.

PREGUNTA 3.

Esta sección del cuestionario se refiere a la identificación de los principales vectores y reservorios animales de rabia. El detalle de los datos de 1965 figura en el documento de la OMS Rabia/Inf./67.24. Los resultados de la encuesta de 1966 dan el número de infecciones animales en cada país y la especie más importante desde el punto de vista de mordeduras a los seres humanos (Tabla 1). Es evidente, tanto a partir de los datos de 1965 como de los de 1966, que los pe-

rros son los vectores de rabia más importantes para el hombre. En el Medio Oriente y en Asia también los lobos, chacales y otros carnívoros salvajes juegan un papel de importancia. Los brotes recientes en Europa subrayan, así mismo, la importancia de reservorios silvestres tales como los zorros. El murciélago rabioso es una amenaza constante. Por ejemplo, en Estados Unidos se notificaron 377 casos de rabia en murciélagos, casi tantos como en perros (412). Los murciélagos son vectores importantes en América Central, Argentina, Colombia, Guayanas y Venezuela. La mangosta es un vector significativo en la zona del Caribe, incluyendo Cuba y Puerto Rico.

PREGUNTA 4.

Se solicita a los destinatarios que describan brevemente las tendencias observadas en la propagación de la rabia en los respectivos países. Los principales cambios ocurridos en 1966 fueron descritos anteriormente. Algunos de los restantes serán mencionados brevemente ahora:

Las autoridades de *Canadá* informan que la enfermedad ha comenzado a establecerse entre la fauna silvestre de las provincias del este y del centro del país. En 1947 se diagnosticó rabia en el zorro ártico blanco. Desde entonces, la enfermedad se ha diseminado hacia el sur y hacia el este, estableciéndose, en esas regiones, en los zorros y zorrinos. *Costa Rica* notifica que la rabia se ha extendido, en 1966, hacia la parte norte del país. En *Checoslovaquia*, la rabia prevalece entre los animales salvajes de las zonas fronterizas, debido a la existencia de condiciones favorables. *Dinamarca* estuvo libre de rabia desde el brote de agosto de 1965. Hubo un caso, en enero de 1966, en una vaca estabulada desde el brote de 1965. Se buscaron los antecedentes de este caso, descubriéndose que la infección había sido contraída por el animal durante la estación de pastoreo de 1965. *Irán* notifica una severa epizootia de rabia en la zona de la costa del Caspio. *Israel* afirma que la mayoría de los casos ocurridos en 1966 tuvieron lugar en las zonas fronterizas. También en *Lesotho* los casos de rabia han ocurrido cerca de las fronteras con Sudáfrica y se prevé la posibilidad de que la enfermedad se extienda. Normalmente, no hay rabia en Lesotho. *Uruguay* informa una marcada disminución en el número de casos de rabia en animales.

PREGUNTA 5.

Este punto se refiere a la exposición humana. Los datos, presentados en la Tabla 2, informan sobre el número de personas que han recibido tratamiento antirrábico en los diferentes países en 1966.

Cuando hay datos disponibles, también se indican los casos con reacción sistémica a la profilaxis. En 1966 se registraron 9 accidentes paralíticos entre 146.795 personas vacunadas. En 1965, el número total de accidentes fue de sólo 19 entre 517.000 personas tratadas. El número de reacciones paralíticas es pequeño, aún cuando se considera la posibilidad de que algunos casos no hayan sido notificados.

La última parte de esta pregunta se refiere al número de muertes humanas debidas a rabia, discriminando entre las víctimas que habían recibido tratamiento profiláctico y las que no habían sido vacunadas. El número total de muertes humanas en 1965 fue de 699; en 1966 hubo 123. Los datos comparativos de los dos años para cada país, la mortalidad en 1966 entre personas tratadas y no tratadas, y los periodos de incubación de la enfermedad, figuran en la Tabla 3. Hay pequeñas dudas sobre la concordancia de las cifras de muertes humanas notificadas y la verdadera situación, especialmente en los países en desarrollo donde los servicios de notificación cubren sólo una parte de la población (por ejemplo, Tailandia, como se mencionó más arriba).

Consideraciones generales.

La revisión del panorama actual con respecto a los informes oficiales de la situación de la rabia en varias partes del mundo, señalan ciertas tareas principales que deben realizarse. Pueden resumirse así:

1. Mejorar las actividades de vigilancia, combinadas con una notificación más rápida de los brotes de la enfermedad a las autoridades internacionales (OSP/OMS, FAO, OIE) quienes asumirían la responsabilidad de transmitir esta información a los países miembros. De hecho, esta sugerencia será considerada por un grupo de la OMS ocupado en el establecimiento de medidas cuarentenarias internacionales. Los procedimientos de vigilancia, sin embargo, plantean problemas bastante diferentes a los de la notificación. Debe desarrollarse una metodología de vigilancia apropiada para las diferentes partes del mundo, teniendo en cuenta problemas tales como encuestas serológicas entre la fauna silvestre, técnicas de aislamiento, estudios ecológicos, etc.
2. Mejorar la aplicación de las recomendaciones del Comité de Expertos en Rabia de la OMS en lo que se refiere al transporte internacional de animales. Este punto será discutido en otra ocasión en este mismo Seminario.
3. Desarrollar métodos mejorados para el control de la fauna silvestre. Esto involucra, *a priori*, un mayor conocimiento de la ecología de los animales salvajes involucrados como reservorios y transmisores de la rabia en diferentes partes del mundo.
4. Es necesario restringir la producción de vacuna antirrábica y antisuero a unos pocos laboratorios grandes, que puedan satisfacer las necesidades de varios países de una región, lo cual es preferible a que un gran número de pequeños laboratorios produzcan cantidades limitadas de productos biológicos antirrábicos, procedimiento poco económico que da, a menudo, como resultado, productos no satisfactorios. La po-

sibilidad de producir en gran escala vacunas desecadas estables y potentes debe dar impulso a la tendencia hacia una producción centralizada.

En resumen, la rabia es una enfermedad no erradicable debido a lo extenso de los reservorios entre los murciélagos y la fauna silvestre. En escala mundial, por consiguiente, quedará como un problema sujeto a constante revisión.

TABLA 1

**Número de casos notificados de rabia en animales (1965-1966)
y especies animales afectadas (1966)**

AFRICA

PAIS	Número de casos animales		Especies encontradas rábidas en 1966				
	1965	1966	Perros Gatos	Zorros Lobos Chacales	Murciél. Mangostas	Ganado	Otros
ARGELIA Argel	69	35 ¹	35				
CAMERUN Yaoundé	77	19	19				
GHANA Tamale	?	66	64			2	
KENIA Kabete	7	4	3		1		
LESOTHO Maseru	0	0					
MALAWI Zomba Blantyre	162	154	139	2	—	10	3
MARRUECOS Casablanca Tánger	404 ?	336 262	280 236	— —	— —	53 2	3 24
MOZAMBIQUE Lourenco- Marques	35	79	75	—	—	4	—
NIGERIA Vom	50	36	35	—	—	1	—
R.A.U. Cairo	47	36	35	—	—	1	—
RODESIA Salisbury	?	251	83	140	—	21	7

¹ Casos diagnosticados en el Instituto Pasteur solamente.

AFRICA (cont.)

PAIS	Número de casos animales		Especies encontradas rábidas en 1966				
	1965	1966	Perros Gatos	Zorros Lobos Chacales	Mangostas Murciél.	Ganado	Otros
SENEGAL Dakar	?	10	6	—	—	4	—
SIERRA LEONA Freetown	?	10	10	—	—	—	—
TOGO Lomé	1	15	15	—	—	—	—
UGANDA Kampala	16	40	37	1	—	2	—
Entebbe	ver arriba	32	28	1	—	2	—

AMERICA

ARGENTINA Santa Fe	28	63	63	—	—	—	—
BARBADOS Bridgetown	0	0	—	—	—	—	—
BRASIL São Paulo	13	9	9	—	—	—	—
CANADA Ottawa	1553	1151	154	427	10	341	219
Edmonton	ver arriba	1	—	—	—	1	—
COLOMBIA Calí	?	264	263	—	—	1	—
COSTA RICA San José	23	20	19	—	—	1	—
EST. UNIDOS Atlanta	4341	4197	664	864	377	587	1705 ¹
GUADALUPE Pointe-à-Pitre	0	0	—	—	—	—	—
GUATEMALA Guatemala	?	197	190	—	—	7	—
GUAYANA Georgetown	?	?	—	—	—	—	—
MARTINICA Fort de France	0	0	—	—	—	—	—
URUGUAY Montevideo	282	516	509	—	—	7	—

¹ 1522 mordeduras de zorrinos.

ASIA

PAIS	Número de casos animales		Especies encontradas rábidas en 1966				
	1965	1966	Perros Gatos	Zorros Lobos Chacales	Murciél. Mangostas	Ganado	Otros
COREA Anyang	?	10	10	—	—	—	—
IRAN Teherán	39	54	47	5	—	1	1
IRAK Bagdad Abu Ghraib	5	1	1	—	—	—	—
ISRAEL Jerusalén	?	21	13	1	—	7	—
JAPON Kashiwa	0	0					
KUWAIT Kuwait	3	Ning. regist.					
LIBANO Beirut	18	116	20	—	—	3	93
MALASIA Jesselton Kuala Lumpur	1	0					
SARAWAK Kuching	0	0					
TAILANDIA Bangkok	440	494	494	—	—	—	—
TURQUIA Ankara Izmir	>1065 ver arriba	? 0	—	—	—	—	—

EUROPA

AUSTRIA Viena	0	9	—	9	—	—	—
BELGICA Bruselas	0	46	2	41	—	1	2
BULGARIA Sofía	1	0	—	—			
CHIPRE Athalassa	?	0					
CHECOESLOV. Bratislava Praga	150 vea arriba	76 188	3 18	70 164	— —	2 5	1 1
DINAMARCA Copenhague	62	1	—	—	—	1	—

EUROPA (cont.)

PAIS	Número de casos animales		Especies encontradas rábidas en 1966				
	1965	1966	Perros Gatos	Zorros Lobos Chacales	Murciél. Mangostas	Ganado	Otros
ESPAÑA							
Madrid	37	20 ¹	20	—	—	—	—
FINLANDIA							
Helsinki	0	0					
FRANCIA							
París	0	0					
G. BRETAÑA							
Londres	0	0					
GRECIA							
Atenas	432	248	174	—	—	68	6
GROENLANDIA							
Copenhague	15	23	13 (Perros de trinco)	8 (Zorros polares)			2 (renos)
IRLANDA							
Castelknock	0	0					
ITALIA							
Bolonia	0	0					
LUXEMBURGO							
Luxemburgo	0	28	—	27	—	1	—
NORUEGA							
Oslo	0	0					
PAISES BAJOS							
Rotterdam							
Utrecht	1	0					
POLONIA							
Varsovia	124	157	79	45	—	22	11
PORTUGAL							
Lisboa	?	0					
Porto							
SUECIA							
Estocolmo	0	0					
SUIZA							
Berna	0	0					
YUGOESLAVIA							
Novi Sad	?	2	2				

OCEANIA

FIJI							
Sura	0	0					
NVA. ZELANDIA							
Wellington	0	0					

¹ Casos sospechosos.

TABLA 2

Tratamiento profiláctico antirrábico humano, 1966

AFRICA

P A I S	Vacuna sola	Vacuna y suero	Suero solo	Total
ARGELIA Argel	10.484	—	—	10.484
CAMERUN Yaoundé	2.865	110	10	2.985
MALAWI Zomba	2.611	—	—	2.611
MARRUECOS Casablanca	4.630	184	—	4.814
R. A. U. Cairo	39.031	—	—	39.031
RODESIA Salisbury	450	—	—	450
SENEGAL Dakar	111	8	3	122
UGANDA Kampala	217	—	—	217

A M E R I C A

ARGENTINA Santa Fe	445	4	—	449
BRASIL São Paulo	143	—	—	143
CANADA Edmonton	3	1	—	4
COSTA RICA San José	126	—	—	126
ESTADOS UNIDOS Atlanta	22.000 ¹	8.000 ¹	—	30.000 ¹
GUATEMALA Guatemala	3.560	no hay información		3.560 ¹
URUGUAY Montevideo	2.500	6	—	2.506

A S I A

IRAN Teherán	352	567	123	1.042
ISRAEL Jerusalén	452	185	32	669
KUWAIT Kuwait	43	—	—	43

¹ Cifras aproximadas.

ASIA (cont.)

P A I S	Vacuna sola	Vacuna y suero	Suero solo	Total
LIBANO Beirut	680	17	30	727
TAILANDIA Bangkok	6.806	—	—	6.806
TURQUIA Ankara	21.741	131	—	21.872
Izmir	2.547	41	11	2.599

EUROPA

AUSTRIA Viena	716	—	—	716
BELGICA Bruselas	27	2	—	29
CHECOESLOVAQUIA Praga	1.240	3	—	1.243
DINAMARCA Copenhague	1 ¹	1	—	2 ¹
ESPAÑA Madrid	3.332	—	—	3.332
FRANCIA Paris	45	—	—	45 ²
GRAN BRETAÑA Londres	25	2	—	27
GRECIA Atenas	6.204	244	—	6.448
GROENLANDIA Copenhague	1 ³	3	—	4
LUXEMBURGO Luxemburgo	3	—	—	3
PAISES BAJOS Utrecht	4	—	—	4
POLONIA Varsovia	712	5	—	717
PORTUGAL Lisboa	47	—	—	47
Porto	69	—	—	69
YUGOESLAVIA Novi Sad	2.361	—	—	2.361

1 + 2 series discontinuadas.

2 + 495 personas mordidas que se presentaron a consulta.

3 1serie.

TABLA 3

Número de muertes humanas por rabia (1965-1966) y períodos de incubación - Muertes de individuos tratados y no tratados (profilaxis biológica)

AFRICA

P A I S	Muertes por rabia		Muertes 1966		Períodos de incubación 1966		
	1965	1966	trat.	no trat.	0/30	30/90	> 90
ARGELIA Argel	20 ¹	26 ¹	?	?	?	?	?
CAMERUN Yaoundé	3	1		1		1	
LESOTHO Maseru	0	0					
MALAWI Zomba Blantyre	5	?					
MARRUECOS Casablanca	60	29 ²	1	28 ²	1		
R.A.U. Cairo	10	6	—	6	1	3	2
RODESIA Salisbury	?	2	—	2		2	
SENEGAL Dakar	?	2	—	2		2	
SIERRA LEONA Freetown	0	0					
TOGO Lomé	0	1 ³					
UGANDA Kampala	19	3	—	3	3		

AMERICA

ARGENTINA Santa Fe	0	0					
BRASIL São Paulo	1	0					
CANADA Ottawa Edmonton	0 0	1 0	1			1	
COLOMBIA Cali	?	6		6	1	1	4 ³
COSTA RICA San José	0	0					

¹ Solamente en el Hospital El Kettar, Argel.

² No controlado.

³ Período de incubación desconocido.

AMERICA (cont.)

P A I S	Muertes por rabia		Muertes 1966		Períodos de incubación 1966		
	1965	1966	trat.	no trat.	0/30	30/90	> 90
ESTADOS UNIDOS							
Atlanta	2	1	1		1		
GUADALUPE							
Pointe-à Pitre	0	0					
GUATEMALA							
Guatemala	?	6		6		6	
GUAYANA							
Georgetown	0	?					
MARTINICA							
Fort de France	0	0					
URUGUAY							
Montevideo	1	1		1		1	

ASIA

IRAN							
Teherán	11	8		8	1	6	1
ISRAEL							
Jerusalén	?	0					
KUWAIT							
Kuwait	0	0					
LIBANO							
Beirut	4	0					
MALASIA							
Jesselton	0	0					
Kuala Lumpur							
TAILANDIA			2		2		
Bangkok	13	19		17	4	12	1
TURQUÍA			2		2		
Ankara	16	10		8	2 ¹	4	2
Izmir	Ver arriba	0					

EUROPA

AUSTRIA							
Viena	0	0					
BELGICA							
Bruselas	?	—					
CHECO- ESLOVAQUIA							
Bratislava	—	0					
Praga							

¹ Período de incubación no registrado.

EUROPA (cont.)

P A I S	Muertes por rabia		Muertes 1966		Períodos de incubación 1966		
	1965	1966	trat.	no trat.	0/30	30/90	> 90
ESPAÑA Madrid	1	0					
GRECIA Atenas	3	1	1			1	
GROENLANDIA Copenhague	0	0					
LUXEMBURGO Luxemburgo	0	0					
POLONIA Varsovia	3	0					
YUGOESLAVIA Novi Sad	?	0					

Comentarios

DR. KAPLAN — Tener que abrir una reunión es como tener que dirigir la obertura de un concierto, y pienso que lo que voy a decir esta mañana será la respuesta a las interrogaciones que comenzamos hace 7 años para tratar de saber qué es lo que está pasando en el mundo con la rabia. Nos entusiasmos pensando que podríamos poner algún orden en el caos, pues los datos que teníamos eran poco dignos de confianza, y aún lo son como lo haré notar más adelante. De manera que elaboramos cuidadosamente un cuestionario y esperamos confiadamente las respuestas. Pasó lo mismo que con el director de orquesta que reemplazó a Fürtwängler. Cuando éste murió se consiguió un reemplazante, que no fue del agrado de los miembros de la orquesta. A la media hora de que la orquesta estaba ejecutando una composición por tercera vez, el director los detuvo repentinamente diciéndoles: "Señores, ¿les importaría repetir este pasaje de nuevo? No me suena del todo bien". Así lo hicieron, y a los 5 minutos detuvo la orquesta nuevamente: "Probemos una vez más". Pero entonces el primer violinista, muy molesto, le dijo: "Maestro, ¿qué es lo que usted está dirigiendo?". El maestro respondió: "La obertura Coriolano de Beethoven". Y el violinista dijo: "Ud. estará dirigiendo la obertura Coriolano de Beethoven, pero nosotros estamos tocando Stravinsky". Igual fue cuando recibimos las respuestas al cuestionario; yo pensé que nosotros estábamos dirigiendo el Coriolano de Beethoven y las respuestas me recordaron a la suite "El pájaro de fuego" de Stravinsky.

Es muy engorroso, en el campo de la rabia, saber qué es lo que está pasando en el mundo. Los cuestionarios contienen preguntas específicas, pero las respuestas son casi ininteligibles. No tienen sentido. Y Uds. pueden verlo observando las tablas estadísticas que figuran al final de la copia del trabajo que Uds. tienen. Si examinan cuidadosamente las cifras verán que no reflejan un cuadro de la situación actual de la rabia en los diferentes países. Las notificaciones son terriblemente pobres. En países como la India, se obtiene una información en un laboratorio y otra completamente diferente en otro laboratorio. En mi trabajo menciono el caso de Tailandia; se nos notificaron oficialmente 16 muertes humanas por rabia, y sabemos por otras fuentes que en realidad ascendieron a 400-500. Lo mismo en las Filipinas.

Una de las cosas que espero de este Seminario es que los participantes lleven a sus respectivos países el convencimiento de la importancia que tiene el mejorar las informaciones y el someterlas a las organizaciones competentes —OSP/OMS— para que nosotros podamos conseguir las respuestas rápidamente. Con este objeto, Uds. verán que estamos tratando de estimular las actividades de vigilancia sanitaria. Esta vigilancia significa mantener los ojos puestos en la situación de la rabia, y ver cómo va evolucionando en un período determinado. Dentro de unos minutos discutiremos algunas de las estadísticas. Un escritor británico del siglo pasado dijo que el hombre usa las estadísticas como un ebrio usa un farol, más para apoyarse en él que para iluminarse. Nosotros esperamos que, en el futuro, las estadísticas nos den más luz en la materia y no solamente apoyo para nociones preconcebidas, que muchos de nosotros hemos mantenido durante años de trabajo en este terreno.

Uds. tienen las tablas delante, yo no voy a leerlas. Lo que voy a hacer es esquematizar a grandes trazos lo que está sucediendo en diferentes partes del mundo, mencionando algunos antecedentes observados durante la pasada década. Mis comentarios estarán basados en las respuestas a los cuestionarios de 1966. Fíjense que estamos en setiembre de 1967 y las respuestas que voy a comentar, correspondientes a 1966, llegaron en agosto de 1967. No está tan mal, pues al principio tuvimos que comenzar con 3 años de atraso, lo cual les da una idea de lo lenta que era la recolección de datos sobre los casos ocurridos en los diferentes países. Cada año hemos tratado de ir acelerándola; el último cuestionario fue enviado en mayo, pidiendo las respuestas para mediados de agosto, de manera que los informes puedan salir en octubre. El año próximo trataremos de acortar este intervalo, de manera que los informes puedan ser enviados lo más pronto posible y la gente pueda usar las estadísticas en sus actividades corrientes. En el trabajo que Uds. tienen he tratado también de incluir algunas de las informaciones más recientes sobre la situación en 1967, referidas en particular a la región eu-

ropea, que es la que está más cerca de nuestra sede y la que mejor conocemos.

Me voy a referir a la lista de los países que notificaron presencia de rabia en 1965. Esta lista les dará una idea de la distribución de la rabia en los diferentes países del mundo. Uds. ven, por ejemplo, que Malasia estuvo libre de rabia casi 12 años, gracias a una campaña que auspició la OMS introduciendo el uso de vacuna Flury, a comienzos de 1950. Se llevó a cabo casi como un programa modelo y tuvo éxito, pero ahora, debido a una disminución del control gubernamental, la rabia está de nuevo presente en el país. En 1966, algunos otros países notificaron la introducción de rabia. Es de particular interés en Europa el caso de Austria, Bélgica y Luxemburgo, países donde la enfermedad ha sido reintroducida por primera vez después de varios años; volveremos a hablar de ellos más tarde. A continuación tienen la lista de los países libres de rabia en 1965 y 1966. No sé si la parte que corresponde a las Américas es del todo correcta; Uds. pueden corregirme. Dice el informe que Barbados, Guadalupe, Guayana Francesa, Montserrat, Martinica y San Vicente están libres de rabia; esa es la información que se nos ha enviado. En lo que respecta a los cambios significativos ocurridos en la situación de la rabia en los diferentes países me extenderé un poco, porque creo que en este sentido hemos podido conseguir un verdadero cuadro de lo que ha estado sucediendo. Y lo que hemos observado durante los últimos 10 años ha sido una difusión de la rabia silvestre incuestionablemente mayor de lo que nosotros sabíamos o creíamos que existía después de la última guerra. Esto es verdad para Europa y Norteamérica, y quizás también para América Central y del Sur. En Europa nos estamos enfrentando con una situación muy inquietante, pues hemos visto que la rabia de los zorros ha pasado de Alemania a los países limítrofes, casi todos los cuales se han visto afectados. En Dinamarca la rabia había sido reintroducida antes, creo que en 1964, pero una enérgica campaña de vacunación canina en la frontera, en una profundidad de 25 Km., y de reducción de la fauna silvestre, consiguieron mantenerla bajo control. Pero no sucede lo mismo en Bélgica, donde se notifican numerosos casos; la introducción de rabia de los zorros desde Suiza ha preocupado mucho a las autoridades. La historia de Holanda es particularmente interesante; estuvo libre de rabia hasta agosto de 1965 cuando un perro, traído de Ceilán, causó una cantidad de problemas. No hay casos notificados para 1966, pero es una experiencia ilustrativa del peligro que siempre existe en un país libre de rabia cuando no hay suficientes medidas de control en las fronteras. Esto con seguridad lo vamos a discutir más ampliamente cuando llegemos a la parte de programas de control y movimiento internacional de animales.

Guam es un territorio, una isla, que estuvo libre de rabia hasta la introducción de perros rabiosos por transportes militares que pa-

saron por allí. Lo mismo sucedió en Inglaterra después de la Primera Guerra Mundial; los soldados que volvían a Inglaterra trajeron sus mascotas con ellos, introduciendo la rabia canina en el país, lo cual motivó la imposición de las severas medidas cuarentenarias que caracterizan hoy día a Inglaterra.

Uds. notarán que en Estados Unidos, actualmente, el problema principal reside en los zorrinos y los zorros; están reemplazando a los perros como fuente principal de la infección. Esta tendencia se observa en casi todos los países en los cuales hay campañas eficaces contra la rabia. En Europa central hay pocos casos en perros, pero la razón es que en esos países los perros no se vacunan por razones particulares, pero los animales son mantenidos por sus dueños bajo buen control.

Los gatos no son controlados, por lo cual hay muchos casos en gatos, pero el problema más importante es la rabia de los zorros, de tal forma que estamos organizando para el año próximo un seminario en Alemania, para tratar el problema de la rabia de los animales silvestres y qué se puede hacer al respecto. Francamente es poco lo que sabemos sobre qué se puede hacer, pero vale la pena discutir lo que sabemos y no sabemos acerca de esta cuestión particular.

La tercera parte del cuestionario se refiere a los principales vectores y reservorios de la rabia animal. Y nos encontramos nuevamente con lo que les estaba diciendo. Vemos que en países avanzados, como Estados Unidos, Canadá y algunos países europeos, que han controlado la rabia canina, el problema principal ha pasado a ser la fauna silvestre; para la mayoría de los países, sin embargo, el perro continúa siendo el más importante reservorio y transmisor de la enfermedad. Tal sucede en Africa, Asia y Europa oriental, y yo creo que en nuestras consideraciones sobre la epidemiología de la rabia aún debemos poner al perro en el primer lugar de importancia en la mayoría de los países. Esto presenta un problema especial en el sudeste de Asia y en los países mahometanos del Medio Oriente. En los países budistas los perros callejeros no pueden ser capturados, pues se considera que tienen un alma tan libre como cualquier otra. En los países árabes, el perro es considerado impuro, y el hecho de querer capturarlos o llevarlos a una clínica de vacunación provoca problemas de orden social y cultural. En Africa y Asia, los perros salvajes, los "perros parias" como los llaman, constituyen los principales reservorios y transmisores de la enfermedad.

El problema es diferente en los países de América. No quisiera hablar mucho sobre los vampiros, a los cuales dedicaremos una sesión especial, ni al problema de los murciélagos insectívoros, muy importante en Estados Unidos, sino decir solamente que la transmisión de la rabia por los murciélagos preocupa en todas partes del mundo. Desde que fue detectada por primera vez en Florida, Estados Unidos, hemos estado atentos a la aparición de esta infección

en murciélagos en otras partes, especialmente del Viejo Mundo. Y nos hemos encontrado con una situación muy curiosa. En Africa, miles de murciélagos han sido examinados; sus cerebros han sido inoculados en ratones para tratar de detectar la presencia de virus y, a pesar de esta búsqueda tan cuidadosa, particularmente en Nigeria, no se ha encontrado ni un solo caso hasta ahora. En Yugoslavia no hay dudas sobre un aislamiento; tanto en Alemania occidental como oriental parece que se ha conseguido un aislamiento válido; en Turquía ciertamente hubo una observación valedera, y un caso sospechoso fue observado en la India. El año pasado, los veterinarios del ejército han probado, sin dudas, la presencia en Tailandia de rabia en las poblaciones de murciélagos insectívoros y frugívoros. Creo que hubo 23 aislamientos, lo cual demuestra que la rabia de los murciélagos no es un fenómeno peculiar del hemisferio occidental, sino que es endémica o enzoótica en diferentes partes del mundo, y creo que si seguimos buscando también la encontraremos en el continente africano. Y, en tal situación, los murciélagos constituyen un reservorio no erradicable; quiero decir que no podemos pensar en eliminar a las poblaciones de murciélagos. Y esto significa que no podemos pensar en eliminar la rabia a menos que ocurra algún fenómeno ecológico del cual no tenemos idea hasta el momento.

La última parte del cuestionario se refiere a las muertes humanas por rabia y aquí nos encontramos con un disfraz de las informaciones, pues el número total de muertes notificadas para 1965 fue de 699, y sabemos que ese número correspondería quizá sólo a la suma de los casos de Tailandia y de las Filipinas, y tal vez lo excedería. Sin tomar en cuenta los cientos de casos ocurridos en la India y Africa, donde la rabia se ha convertido en un problema muy serio en los últimos años. De manera que las cifras oficiales no tienen ningún sentido, a menos que Uds. se den cuenta de que sólo significan una fracción de lo que realmente ha ocurrido en el mundo. Hasta el 16 de agosto de 1966, los países y laboratorios que respondieron habían registrado solamente 123 muertes, otra cifra sin sentido que nosotros registramos porque estamos informando simplemente los datos que se nos envían. Tenemos esperanzas de que las autoridades de los diferentes países pondrán más cuidado, y nos enviarán dos cifras si fuere necesario, una correspondiente a los casos oficialmente diagnosticados en los hospitales y clínicas, y otra, estimativa pero sin exageraciones, que nos dé una ideal real de la situación, de manera que podamos tener un factor de error de 2 ó 3 en lugar de un factor de 10 ó 20.

Como resumen, tomaré lo que considero los 4 problemas principales en el mejoramiento de nuestra visión sobre la situación de la rabia en el mundo. Antes mencioné el mejoramiento de las actividades de vigilancia sanitaria como un medio de obtener sistemas de notificación más rápidos y más seguros. Uds. saben que la vigi-

lancia de las enfermedades ha ocupado la atención de nuestras organizaciones —OSP y OMS— y hemos estado durante varios años estudiando las formas de aumentar nuestro conocimiento sobre la manera de establecer métodos de detección que nos den una idea de la situación de una enfermedad particular en un determinado tiempo, de tal modo que cualquier disturbio en la situación pudiera ser descubierto en las sedes donde se mantienen los sistemas de recepción de información. Con tal sistema se podría determinar en cualquier momento si en una zona cualquiera están ocurriendo anomalías. Tomará muchos años desarrollar un sistema mecanizado para el cómputo de la información que se recibe de diferentes partes del mundo. Este será el punto final y más sofisticado de tal metodología; lo que estamos tratando de hacer por el momento es usar armas más bastas, y esas armas son: diagnósticos de laboratorio, encuestas serológicas, registros oficiales de datos dentro de los diferentes países, comenzando en las zonas periféricas de un país, creando un mecanismo de flujo continuo de información, de la forma más simple posible. No es fácil hacer esto. Los que hemos trabajado en las zonas rurales de India, Africa y Sudamérica sabemos cuán difícil es establecer este tipo de vigilancia. Pero creemos, y con razón, que con sentido común y una inteligencia normal podríamos mejorar mucho nuestros sistemas de notificación de las enfermedades infecciosas agudas, tanto en el caso de la viruela, como de la rabia u otras enfermedades epidémicas. Estamos tratando, por ejemplo, con problemas de cólera en el Lejano y en el Medio Oriente y no estamos conformes con la lentitud con que llegan los informes sobre la difusión del cólera a nuevos distritos, de manera que la organización ha debido re-estudiar todo el problema para determinar qué mejoras pueden introducirse en la metodología dentro de las posibilidades de tales países, y trabajar hacia una mayor eficiencia con el correr de los años.

Específicamente con respecto al problema de la rabia, estamos dando los primeros pasos para aumentar las actividades de vigilancia, y esperamos que nuestros esfuerzos darán fruto este año en Europa. En tal sentido se harán encuestas en la fauna silvestre, para obtener un cuadro más exacto de la situación de la rabia en los diferentes países. Esperamos que, en forma paralela, se mejoren en América latina los servicios de vigilancia. De esta forma aprenderemos, pues la rabia es una enfermedad que permite ser diagnosticada en una forma más segura y más rápida que muchas otras. De manera que podemos usar a la rabia como un modelo y las fallas y los éxitos en los procedimientos pueden ser transferidos al uso con otras enfermedades transmisibles. Y basta por ahora sobre vigilancia. Es algo que está comenzando a desarrollarse y Uds. tendrán ocasión de oír más sobre ella, pero el resultado final depende de la colaboración de Uds. con la organización para mejorar no sólo los informes sino también los servicios regionales de notificación.

Otras conclusiones que surgen al analizar la situación mundial de hoy día, con su tendencia hacia la fauna silvestre son: que debemos cuidar el movimiento internacional de animales y mejorar los métodos de control de poblaciones de animales silvestres. Sabemos muy poco de la ecología de muchas de las especies silvestres con las cuales estamos tratando.

Es asombroso cómo han pasado tantos años y hemos fallado en solucionar algunos de esos problemas, lo cual nos permitiría establecer con seguridad qué es lo que está pasando dentro del ciclo normal de las poblaciones silvestres, cómo se multiplican, cómo emigran, qué es lo que determina su expansión y la restricción de las poblaciones. Hasta que tengamos una idea clara de tales factores no podremos hacer mucho más que hablar sobre la rabia silvestre.

A raíz de los accidentes de vacunación que se han registrado debo dejar muy claro que demasiados pequeños laboratorios están produciendo productos biológicos contra la rabia, vacunas y anti-suero. Es difícil de creer el hecho de que pequeños laboratorios estén produciendo una vacuna que requiere, para poder confiar en ella, pruebas de potencia y seguridad. Sabemos de tristes experiencias debidas a la falla de productos biológicos. Estamos tratando de mejorar las vacunas de forma que puedan ser liofilizadas y conservadas, y esperamos que, en cada país, la preparación de productos biológicos se integre de tal forma que muy pocos laboratorios grandes puedan cubrir las necesidades de una región o un país, en lugar de tener una multiplicidad de laboratorios produciendo lotes individuales.

Todos Uds. recibirán el informe final sobre este cuestionario en un par de semanas, y esperamos que colaborarán con nosotros en el mejoramiento de las informaciones, lo cual, a su vez, nos indicará de qué modo podemos tratar de mejorar el cuadro mundial de la rabia. Muchas gracias.

DR. VILCHES — Estoy seguro de que varios de los participantes del Seminario, en especial algunos de nuestros consultores y miembros de las delegaciones de los países tendrán algunos comentarios que hacer sobre aspectos particulares del análisis presentado por el Dr. Kaplan.

DR. SIKES — Soy responsable de la vigilancia de la rabia en Estados Unidos, y gracias al trabajo de los 50 Estados de nuestro país hemos podido obtener lo que creemos son buenos datos. Significa un gran esfuerzo mejorar los cuestionarios y enfocarlos en las zonas donde uno tiene problemas específicos. Nuestra información se basa en los diagnósticos de laboratorio y yo quisiera subrayar lo que dijo el Dr. Kaplan sobre la necesidad de mejorar las actividades de vigilancia; se necesitan cifras exactas, y las cifras exactas deben basarse en la información de buenos laboratorios. Nos interesaría obtener de América latina la información por especie y por zona específica de cada país; de esta forma, las agencias nacionales responsables del control de la enfermedad podrán definir primero el

problema y luego estimarlo, saber si la inmunización canina es eficaz, o el control de la fauna silvestre, etc. Quiero además hacer notar que la información que el Dr. Kaplan y sus colaboradores obtienen es sumamente importante para nosotros. Nosotros tenemos gente viajando por todo el mundo y en muchas ocasiones debemos informarles si hay rabia o no en los diferentes países. En el caso de países como Tailandia y los de Asia, debemos aconsejar a la gente, en base a las notificaciones, que se inmunice contra la rabia antes de emprender el viaje.

DR. ACHA — Yo quería hacer un comentario sobre el punto que tocó el Dr. Kaplan de las estadísticas con que contamos. Comparando, por ejemplo, los cuadros del Dr. Kaplan con las estadísticas oficiales que recibe la Oficina Sanitaria Panamericana de los respectivos gobiernos, en 12 países solamente coincidimos en una cifra. En verdad es un poco triste de reconocer, pero no tenemos información adecuada de la situación de la rabia en los países. Muchos laboratorios trabajan en el diagnóstico de rabia, pero guardan el registro de los casos en cuadernos dentro de un cajón. La información que recibe el servicio de estadística del Ministerio de Salud normalmente proviene de las autoridades municipales más que de las autoridades sanitarias o de los servicios que trabajan con esta enfermedad. Y es así que los datos con que contamos son siempre de carácter estimativo; no tenemos información oficial adecuada y las cifras son un poquito extravagantes, diría yo, en lo que respecta a la casuística. Refiriéndonos al caso de Argentina, por ejemplo, se registran en el cuestionario de la OMS sólo 29 casos de rabia animal ocurridos en la provincia de Santa Fe en el año 1965, mientras que el informe que la OSP recibió del Ministerio de Salud Pública de la Nación para el mismo año informaba 1.271 casos de rabia que, posiblemente, tampoco representa la realidad. Pero aún con estos datos que, como decía el Dr. Kaplan, si bien no nos iluminan nos ayudan, vemos que en el período 1947-1956 había solamente un promedio de 178 casos de rabia en el hombre, mientras que en el período 1957-1966 hubo 216 casos notificados. De acuerdo a esta estadística, en los 10 años que van de 1957 a 1966, Colombia ha sido el país que notificó mayor número de casos humanos, 643; México y Argentina siguieron en segundo y tercer lugar, con 405 y 197, respectivamente. Hay países, por ejemplo, que notifican 195 casos humanos de rabia por año; casos diagnosticados, como decimos nosotros, por la pluma del presidente municipal a quien fueron a pedirle un permiso de defunción, pero que no corresponden a los datos de laboratorio. A lo que trato de llegar es a que hay una incoordinación grave entre los servicios que trabajan en rabia y los servicios de notificación de estadísticas, dentro del propio Ministerio de Salud. Hay veces en que el servicio antirrábico de un país declara a la Oficina Sanitaria Panamericana un número de casos, y el servicio de estadística, que está probablemente en el segundo piso del

mismo edificio, declara una cifra totalmente diferente. Yo creo que una de las recomendaciones del Seminario debería ser la necesidad de contar con una información más adecuada de los casos de rabia que ocurren en los países. Y esto en lo que respecta a rabia canina, en gatos y humana. Si hablamos de rabia bovina, es peor todavía. Recibimos a veces la información de que hubieron 25 casos de rabia bovina en un país donde en realidad hubieron 25 brotes, con pérdida de más de 2 ó 3 mil animales. Por supuesto también en este caso casi todos los datos son estimativos y no nos dan una idea adecuada de la magnitud del problema.

Considero que es muy importante que tengamos, no sólo información sobre los casos, sino quizás también de los programas de trabajo, y estos datos son también muy deficientes. Una pregunta a la cual nunca podemos obtener respuesta adecuada es, por ejemplo, el número de animales que se vacunan contra la rabia en el país y número de perros callejeros que se eliminan. Todas las informaciones son estimativas y unos estiman, por ejemplo, la población canina en 9.000.000 y otros dicen que hay 3.000.000 de perros. La diferencia es bastante grande y muy importante cuando uno quiere planificar un programa. Hoy día los organismos internacionales, las agencias de crédito, los bancos que están interesados en financiar programas de lucha contra estas enfermedades, cuando uno trata de venderles la idea de un programa o de ayuda a un gobierno, lo primero que piden es la situación del problema en el país y, señores, francamente ésa es la parte más difícil. Nunca podemos partir porque no contamos con información. Yo creo que se debería tener muy en cuenta lo que ha solicitado el Dr. Kaplan en el sentido de mejorar la notificación de los casos y coordinar y centralizar la información en cada país, de manera que podamos saber exactamente contra qué estamos luchando.

DR. ALVAREZ — Refiriéndome a lo que decía el Dr. Kaplan sobre las deficiencias en el envío de información estadística, quería manifestar que es curioso que países que han enviado la información, como el caso de Chile, todos estos últimos años, no figuran, sin embargo, en los boletines o en los cuadros estadísticos. Quizás haya muchos otros países en nuestra misma situación. Nada más.

DR. KAPLAN — Uds. pueden haber enviado el informe desde Chile, pero puede no haber llegado a Ginebra todavía, ya que algunas respuestas las envían por barco y tardan meses en llegar. Como les dije, mi informe aquí incluye las respuestas recibidas hasta el 15 de agosto. Nosotros esperaremos hasta fines de setiembre; entonces todas las respuestas obtenidas serán volcadas en el informe final, que Uds. recibirán. Quizás en estos días se haya recibido el informe de Chile, no sé; pero hay países, como Australia y otros, que envían sus respuestas por vía aérea, lo cual permite que las recibamos dentro de un tiempo razonable.

DR. PORZECANSKI — En cuanto a los pedidos de información que nos llegan de Ginebra, yo también, acompañando al colega de Chile, quisiera hacer notar, primero, que los cuestionarios han sido entregados casi a la fecha en que se cierra la recepción de informes. Segundo, estos cuestionarios se envían a centros de información muy diferentes; no se dirigen a una sola oficina, por lo cual los datos pueden ser contradictorios y repetidos. En algunos ministerios de salud pública, por ejemplo, no llevan registro de datos sobre rabia en animales. Otras veces nos lleva el municipio. Yo sugiero que, para obtener una información más amplia y más exacta, el pedido debería hacerse a través del representante local de la Oficina Sanitaria Panamericana, que conoce exactamente quién tiene los datos y dónde puede obtenerlos. Lo que actualmente se envía a Ginebra es sin orden y una información absolutamente parcializada. Es lo que ocurre en Argentina, por ejemplo. Hay información de Santa Fe solamente, dejando de lado el Gran Buenos Aires, que es el foco más importante. Tal vez las oficinas de Buenos Aires no hayan remitido la información, pero si se la hubieran pedido directamente a la Oficina Sanitaria Panamericana creo yo que se hubiera obtenido un cuadro más exacto de lo que pasa en Argentina.

DR. BARBUTO — Nosotros, en una comunicación que enviamos hace alrededor de un año, sugerimos al Dr. Kaplan que, por lo menos para la República Argentina, solicitara los datos a la Dirección de Enfermedades Transmisibles, donde se centraliza toda la información referente a rabia animal y humana. Me asombra, eso sí, que no figuren los datos referentes a Argentina, pues enviamos al Dr. Kaplan información sobre todo el país.

DR. LOPEZ ADAROS — A propósito de las mejoras en la notificación, yo he tenido suma dificultad en identificar los cerebros humanos por una costumbre que tienen los anatómo-patólogos, no sé si será universal, de fijar el cerebro en formol y matar el virus; la probabilidad de encontrar corpúsculos de Negri parece entonces remota, y el virus no se aísla nunca. Esto es muy importante en países como Venezuela, donde tenemos no menos de un centenar de muertes anuales por encefalitis cuya etiología no conocemos; hay también no menos de un centenar de muertes anuales por encefalomielitis y mielitis. Sería muy recomendable que los laboratorios de diagnóstico de rabia hicieran algún arreglo, nosotros lo estamos intentando en Caracas con el Hospital Universitario, para buscar rabia en estos cuadros de encefalitis y meningoencefalitis que son bastante frecuentes. Es verdad que allá existen otras etiologías probables, como encefalitis equina, por ejemplo, pero no siempre la explicación es fácil en algunos lugares en que hay verdaderas epidemias. De paso y solamente como un comentario, a orillas del Orinoco está situada la ciudad de Bolívar, que se ha convertido en un foco muy atractivo por el hierro, el aluminio, las riquezas hidroeléctricas, y donde hay grandes usinas; en este año hubo epidemias en los meses de

febrero y marzo, con 5-6 muertes en pocas semanas, debidas a encefalitis cuya etiología se nos escapa. Llegamos tarde y encontramos los cerebros fijados en formol, por lo cual no pudimos averiguar nada.

DR. JOHNSON — Me interesaría saber algo sobre casos humanos de rabia transmitida por vampiros en América del Sur. Sabiendo que ha habido un gran número de casos de vampiros rabiosos que han mordido ganado en Argentina, me gustaría saber si alguien de los presentes conoce algún caso de rabia humana transmitida por mordedura de vampiros en Argentina; tal vez alguien de Brasil quiera también hacer algún comentario sobre este punto.

DR. ATANASIU — Hemos encontrado en el norte de Argentina algunos casos humanos de rabia transmitida por murciélagos vampiros; el diagnóstico fue realizado por inmunofluorescencia e inoculación animal.

DR. LOPEZ ADAROS — En Venezuela, la rabia paralítica fue descubierta hace unos 30 años; en los últimos 5 años se están denunciando casi un millar de casos bovinos, y nos llama la atención que habiendo no menos de 100, y quizás un poco más, mordeduras por murciélagos en seres humanos, nunca hemos tenido un caso de rabia humana transmitida por murciélagos en los últimos 30 años. Sí hemos tenido 3 casos humanos de rabia transmitida por otros animales, zorros por ejemplo.

DR. FORREST — En el caso a que aludió el Dr. Atanasiu, nosotros tropezamos con el mismo inconveniente que el Dr. López Adaros; cuando llegamos el cerebro había sido extraído y colocado en formol al 10%. Debimos actuar rápidamente, lavar, hacer los cortes, hacer las impresiones en el porta, reservamos material para pasar en ratones, y así se hizo el diagnóstico. Comprobamos corpúsculos de Negri inmediatamente, y después en la titulación en ratones el virus nos dio un título de $10^{-3.2}$. También en principio se sospechó que se trataba de encefalitis o una parálisis producida por el virus encefalomielítico. En general, como ha mencionado el Dr. López Adaros, siempre los anátomo-patólogos fijan el cerebro en soluciones formoladas.

CAPITULO II

PRESENTE Y FUTURO EN LA INVESTIGACION DE LA RABIA.

J. CAMPBELL, H. KOPROWSKI, E. KUWERT,

*F. SOKOL y T. WIKTOR **

I. — ESTUDIOS "IN VIVO".

a) Patogénesis.

1) Vías de infección.

El virus rábico es transmitido por lo general por mordedura o lamedura de un animal infectado. Puede también ser transmitido por aerosoles¹, pero esta forma de difusión ha sido observada en la naturaleza sólo en una cueva (Cueva Frío de Texas) infestada por una gran cantidad de murciélagos rábidos². Los estudios sobre la propagación de la rabia por inhalación y la susceptibilidad del tejido pulmonar como órgano primario para la reproducción del virus deben ser extendidos a muchas especies de animales de laboratorio y silvestres. Hasta el momento, no hay evidencia de que el virus rábico pueda ser infeccioso por ingestión; no obstante, se presenta aquí nuevamente la oportunidad para una más completa investigación del problema.

2) Diseminación del virus en el organismo.

Desde el lugar de la infección el virus rábico se propaga en forma centripeta utilizando los nervios periféricos³⁻⁶. Hay evidencias de que ni las estructuras perineurales ni las células de Schwann están involucradas en la difusión centripeta del virus; más probablemente, "asciende" pasivamente a través de los espacios perineurales. Estos hallazgos necesitan ser ampliados, sin embargo, mediante la búsqueda de partículas de virus infeccioso en los tejidos implicados, sin confiar solamente en la presencia de antígeno detectable por inmunofluorescencia^{4,5}. Además, nada se sabe sobre los cambios fisiopatológicos que pueden tener lugar en el nervio afectado durante el viaje del virus rábico desde el sitio de la infección al sistema nervioso central.

* Wistar Institute of Anatomy and Biology, Philadelphia, Pennsylvania 19104, Estados Unidos.

Aunque hay amplia evidencia de que el virus rábico no se transmite por vía sanguínea ⁶, se han informado casos de viremia como consecuencia de infección rábica experimental ^{7,8}. Se cree que la viremia es causada por difusión del virus a partir de tejidos de animales infectados con dosis masivas de virus rábico ^{3,6}. El papel que desempeña la viremia en la difusión de la rabia tal vez deba ser reconsiderado a la luz de los informes recientes de infección rábica por inhalación y de las notables diferencias en susceptibilidad de las distintas especies animales ⁹; se utilizarían para ello las especies animales más susceptibles a la infección por diferentes vías.

La microscopía fluorescente ha revelado que el virus rábico, después de penetrar en el sistema nervioso central, se multiplica casi exclusivamente en las neuronas ⁴; muy pequeñas cantidades de antígeno fueron detectadas en las fibras blancas, solamente por un un grupo de investigadores ⁵. El virus es selectivo con respecto a su capacidad de multiplicación en distintas neuronas; no se sabe por qué sólo ciertos grupos morfológicamente definidos de células nerviosas son susceptibles a la infección rábica, mientras que otros no. Cuando el fraccionamiento del tejido nervioso en varios componentes celulares se convierta en una herramienta de laboratorio para la investigación, tal vez sea posible estudiar este asombroso fenómeno de selectividad.

3) Latencia del virus rábico en el organismo.

Exceptuando el hecho de que las células infectadas con virus rábico no soportan neuronólisis o neuronofagia, virtualmente nada se sabe sobre los fenómenos intracelulares que acompañan la infección rábica del sistema nervioso central. Se necesitan con urgencia estudios sobre bases moleculares de neuronas aisladas, obtenidas de animales rabiosos. Sus resultados podrían no solamente arrojar luz sobre la relación virus-célula hospedera en animales, sino también ofrecer una explicación de cuál es el destino del virus durante el período prolongado de incubación que a menudo acompaña la infección rábica durante el proceso infeccioso crónico.

Aunque es un truismo que la infección rábica casi siempre sigue un curso letal, los animales han sido protegidos contra parálisis general y muerte, después de inoculación intraplantar de virus fijo virulento, por inmunización intracerebral con una cepa atenuada (HEP-Flury) (Wiktor y col., a ser publicado). Dado que la cepa Flury de alto pasaje no parece ser capaz de inducir la producción de interferón en tejido cerebral de animales infectados (ver más abajo), es dudoso que la protección de estos animales sea causada por la producción de interferón en el sistema nervioso central. Los animales inoculados padecen solamente de parálisis parcial limitada al miembro inoculado y viven por un tiempo prolongado.

Infecciones abortivas por virus rábico de calle, sin secuelas, ocurren espontáneamente en animales infectados en forma experimental¹⁰; la aparente recuperación de los animales puede estar relacionada con la aparición de inmunoglobulinas antirrábicas en su tejido cerebral¹¹. Aunque estas infecciones abortivas se caracterizan por la completa desaparición de virus infeccioso, es posible que a continuación de una infección "abortiva" el genoma vírico completo pueda persistir en la célula infectada, y que una confrontación con un mecanismo desconocido pueda activar el proceso por síntesis, con la expresión de todas sus funciones, inclusive la infectividad. La observación precisa del trayecto del virus infeccioso a través de las células del sistema nervioso central, y una determinación simultánea del nivel de la producción de interferón —aún cuando no hay ninguna prueba de que el interferón sea producido en el tejido cerebral después de la infección con virus calle— podría tal vez explicar el prolongado período de incubación. Se ha encontrado que la producción de virus por la célula es muy pequeña y que, además, el exceso de virus infeccioso está bloqueado por sustancias inhibitoras específicas del cerebro; en consecuencia, estas consideraciones pueden contribuir a explicar el prolongado período de infección asintomática.

El desarrollo de enfermedad franca seguida de muerte, después de ese período de latencia, es aún el mayor enigma biológico. Las investigaciones en este terreno son de primerísima importancia, puesto que los resultados obtenidos pueden influir, no solamente en la comprensión de la patogénesis de la infección rábica, sino también para lograr un mejor conocimiento del mismo problema existente en el campo de las infecciones a "virus lento".

Finalmente, la presencia de un antígeno específico inducido por el virus rábico en la superficie de células de cultivo de tejido y capaz de reaccionar con suero antirrábico hace imperativa la investigación de posibles fenómenos de autoinmunidad causados por la infección crónica en el cuerpo del animal.

b) Respuestas del huésped.

1) Mecanismos de defensa humoral y celular en la infección rábica.

El mecanismo de defensa humoral dependiente de los anticuerpos y el complemento juega probablemente el papel más fundamental en la inmunidad antirrábica. Hasta que Koprowski y col.¹² informaron los resultados que habían logrado en el efecto preventivo de antisero administrado pasivamente durante las primeras 72 horas después de infección experimental en cobayos, el papel del anticuerpo humoral en el mecanismo de inmunidad de la rabia era casi completamente dejado de lado. Desde entonces han aparecido numerosos informes probando la importancia de los anticuerpos espe-

cíficos en la infección rábica del hombre y de los animales¹³⁻¹⁶. La importancia del anticuerpo en infecciones latentes a virus rábico puede también ser puesta en evidencia por el hecho de que el ACTH y los glucocorticosteroides, así como los factores de tensión, son capaces de convertir un estado de latencia en una enfermedad clínicamente evidente¹⁷. Una explicación factible es que el "estado de equilibrio" entre títulos de "anticuerpos en el cerebro" y producción de virus es alterado en favor del virus por el mecanismo de la tensión.

Aún cuando se encuentran anticuerpos neutralizantes en el suero de animales vacunados, algunas veces no puede prevenirse la aparición de la enfermedad después de la confrontación¹⁸. En vista de este fenómeno, los siguientes puntos deberían ser estudiados para la elucidación final del papel que desempeñan los anticuerpos en la inmunidad antirrábica:

1. — Debería establecerse sobre bases cuantitativas la correlación entre las diferentes variedades de anticuerpos (neutralizantes, fijadores del complemento, precipitantes, inhibidores de la hemaglutinación y citolíticos) y la inmunidad. El papel de los anticuerpos presentes en el líquido cerebro-espinal también debería ser investigado. Estos anticuerpos podrían ser responsables de la llamada "inmunidad cerebral"¹¹.

2. — Dado que hay una marcada diferencia en el efecto protector de las gamma globulinas específicas, 19S ("precoz") y 7S ("tardía"), la dinámica de formación de estos anticuerpos después de la vacunación y durante la infección debería ser estudiada; los resultados que se obtengan deberán ser comparados con el grado de inmunidad real. Tales estudios deben ser llevados a cabo utilizando diferentes cantidades de antígeno para la inmunización, como se ha hecho con el virus polio¹⁹.

3. — Es sabido que, en el caso de otras enfermedades víricas (p. ej. herpes simple) el sistema complemento puede influir en la acción de los anticuerpos humorales sobre los virus. Si esto es cierto también para la rabia, puede esperarse que el grado de resistencia esté determinado no sólo por las propiedades de los anticuerpos, sino también por los efectos cuantitativos o cualitativos de los diferentes componentes del sistema complemento. Debe investigarse el papel que juega en la rabia este sistema inmune no específico.

4. — Aunque se supone generalmente que las diferentes cepas de virus rábico fijo y calle son inmunológicamente uniformes, la comparación serológica mostró marcadas diferencias entre las cepas probadas²⁰⁻²¹ (Wiktor y Kuwert, trabajo no publicado). La cuestión de la dependencia de la inmunidad rábica de la cepa, por consiguiente, deberá tenerse presente para futuras investigaciones.

Las vacunas de cerebro y embrión de ave no son apropiadas para el estudio de los problemas mencionados anteriormente. La proporción de antígenos virales y no virales en esas vacunas es de apro-

ximadamente 10^{-9} a 1^{-22} . Fenómenos inmunológicos tales como la concentración o concurrencia de antígenos podrían por lo tanto influir en forma decisiva sobre el éxito de las experiencias. Estos experimentos deben ser realizados exclusivamente con un antígeno de cultivo de tejido altamente purificado, en el cual esta proporción sea conocida y tan alta como fuere posible. En la vacuna elaborada por nuestro grupo la proporción de antígeno viral y no viral es aproximadamente 1:1.

Con excepción de la infección producida por el virus de la vacinia, que evidentemente induce reacciones inmunes humorales y celulares al mismo tiempo²³, no hay enfermedad vírica en la cual una respuesta inmune celular desempeñe un papel importante en el mecanismo de defensa específico (con excepción de los virus tumorales!). Los resultados, hasta ahora no explicados, de Ross y Armentrout²⁴ que encontraron degeneración tóxica de los centros germinales de los nódulos linfáticos, subrayan la falta de una respuesta inmune a nivel celular en las infecciones rábicas. Dado que no se ha realizado ningún estudio dinámico de la conducta de los linfocitos y nódulos linfáticos en las infecciones rábicas, este punto debería ser investigado usando células de cultivo de tejido infectadas con virus rábico que posean en su superficie un antígeno específico para el virus de la rabia¹⁸. Una adsorción positiva de los linfocitos en estas células indicaría la participación de los linfocitos en la inmunidad rábica — fenómeno que podría ser de interés en los procesos de autoinmunización durante las infecciones crónicas por rabia y otros virus.

2. Antigenicidad del virus rábico.

El virus rábico puede ser considerado un antígeno poderoso. Con cuatro aplicaciones sucesivas de 50 mcg de virus purificado emulsionado en adyuvante completo de Freund, fue posible producir en conejos un antisuero con títulos de anticuerpos neutralizantes de más de 1:60.000 y de fijación de complemento de más de 1:1000. Nuestra vacuna experimental resultó ser 30 veces más antigénica que la vacuna de referencia en la prueba de potencia del NIH. En vista de estos resultados, parece razonable suponer que la aplicación de sólo 2-3 inoculaciones de vacuna de cultivo de tejido, purificada y concentrada, producirá por lo menos el mismo grado de inmunidad que múltiples aplicaciones de las vacunas de cerebro o embrión de ave en uso.

Otro problema que requiere atención es el de los llamados "antígenos solubles". El estado actual de los conocimientos sobre este tema fue delineado por Grasset²⁵. Desde 1966, ha aparecido sólo un trabajo al respecto. Neurath y col.²⁶ determinaron las constantes de densidad (1.26 g/ml) y de sedimentación (12S y 23S, respectiva-

mente) de dos "antígenos S" que aparecieron en células de cultivo de tejido de riñón de hamster infectado hacia el final del ciclo de multiplicación viral. Una de las desventajas de estas experiencias ha sido el uso de antisuero conteniendo anticuerpos no solamente contra el virus rábico, sino también contra una cantidad indeterminada de antígenos celulares o del medio de cultivo. Deben realizarse estudios posteriores con antisuero más específico.

Nada se conoce sobre la significación biológica y el lugar de síntesis de los antígenos solubles en las células infectadas. ¿Son estructuras precursoras (proteínas "tardías") que más tarde se reúnen dentro del virión? ¿Son virus-enzimas compiladas necesarias para la síntesis de los componentes virales? ¿O son simplemente productos desprendidos de las partículas de virus o de cápsulas vacías? ¿En general, los "antígenos S" del virus rábico son una parte de la partícula viral misma, o subproductos de la multiplicación del virus? Para elucidar estos problemas debería investigarse la dinámica de la síntesis de esos antígenos solubles en las células infectadas, en las condiciones descritas por Kaplan y col.²⁷ para las curvas de crecimiento. Para la determinación de los niveles y la formación de diferentes antígenos específicos deben usarse antisueros contra productos del virión roto (p. ej. antisuero contra la membrana y los componentes internos). Paralelamente debería investigarse la dinámica de la formación de virus infectante y antígeno viral, observable por tinción con anticuerpos fluorescentes. La coloración con globulinas producidas contra los antígenos de los virus individuales, marcadas con ferritina, parece ser el mejor método para la determinación del lugar de síntesis de los varios antígenos virales.

3) Interferón.

Hamsters inoculados por vía intramuscular con 60.000 DI_{50} de la cepa CVS de virus rábico fijo, produjeron grandes cantidades de interferón en el cerebro solamente en los dos últimos días antes de su muerte; de los otros tejidos examinados se recobró poco interferón²⁸. Experiencias en desarrollo en este laboratorio indican que las cantidades de interferón producidas por inoculación intracerebral de hamsters con virus rábico fijo y calle, dependen de factores tales como la dosis de virus, edad de los animales, cepa del virus y período de incubación. Por ejemplo, la mayor cantidad de interferón fue obtenida con la cepa PM de virus fijo en el cerebro de hamsters de 3-17 días de edad en el momento de la infección, y los títulos más altos fueron observados cuando los animales estaban moribundos. Otras cepas de virus rábico fijo (HFP y LEP-Flury) no produjeron niveles detectables de interferón durante el curso de la infección; cuando se inocularon hamsters con una cepa de virus calle no se aisló interferón del cerebro, ni en la fase de excitación ni en la etapa

paralítica de la enfermedad (Brinton y Campbell, trabajo no publicado). Estas observaciones sugieren que el interferón es un subproducto de la infección rábica más que un mecanismo eficaz de defensa del huésped contra el virus.

En los cultivos de tejido de hamster, la producción de virus rábico alcanza un pico y luego cae abruptamente durante el curso de subsiguientes transferencias de las células; este fenómeno es acompañado por la aparición de un inhibidor semejante al interferón en el medio de cultivo²⁹. Parece que, aunque el interferón normalmente aparece en el animal demasiado tarde en el curso de la infección como para ser de valor profiláctico, puede inhibir notablemente la multiplicación del virus "in vitro". Es posible, por consiguiente, que la administración pasiva de interferón homólogo, o quizás más práctico, la administración de un sistema de inducción rápida de interferón³⁰, puede ser un agregado valioso al esquema existente de tratamiento posterior a la exposición³¹.

II. — ESTUDIOS "IN VITRO".

a) Adaptación a cultivo de tejido.

Todos los sistemas de cultivo de tejido mamífero o aviar pueden ser infectados, ya sea con virus rábico calle o fijo; sin embargo, el grado de susceptibilidad varía mucho, según la especie animal de la cual deriva el tejido. Las células de embrión de hamster y de pollo de primer explante, así como las células de línea continua son las más susceptibles; y los tejidos de los primates, incluyendo el hombre, son relativamente resistentes a la infección rábica. Cultivos de tejido de otras especies caen dentro de las categorías intermedias.

Hay que salvar considerables dificultades en la propagación seriada inicial del virus rábico en cultivo de tejido. En general, la infección inicial de cultivos de células en monocapa o dispersas induce antígeno fluorescente específico en una proporción muy pequeña de las células, y la transferencia seriada del medio sobrenadante o de extractos celulares en un sistema homólogo de cultivo de tejido da como resultado una disminución gradual de la infección. Por regla general, después de unos pocos pasajes el virus se pierde completamente.

Cultivos infectados mantenidos en estado de multiplicación activa por medio de tripsinizaciones regulares y división, muestran un aumento gradual en el número de células fluorescentes. Después de varias divisiones (de 4 a 10, según el sistema celular y la cepa de virus), todas las células muestran la presencia de antígeno fluorescente y de inclusiones virales. Después de un cierto número de subcultivos, en algunos tejidos tales como la cepa WI-38 de célula diploidea humana, las células dejan de dividirse. Continuos repiques

del virus pueden ser efectuados mezclando una porción de las células infectadas con una población de células homólogas no infectadas en cada pasaje³².

Los policlones acrecientan la adsorción y penetración del virus³³. Esto mejora la susceptibilidad de muchos sistemas de cultivo de tejido a la infección con virus rábico. En particular, se ha observado que el uso de DEAE-dextran (25-50 mcg/ml) en cada transferencia permite la propagación indefinida del virus en cualquier sistema de cultivo de tejido.

b) Replicación.

La dinámica de la infección con virus rábico de células en cultivo no ha sido extensamente estudiada. Poco se sabe sobre el mecanismo por el cual el virus se fija a la célula, aunque Hummeler y col.³⁴ proporcionaron pruebas de microscopía electrónica sobre penetración pinocitótica. Sokolov y col.³⁵ han estudiado la formación de RNA viral en células infectadas con rabia y han llegado a la conclusión de que luego de una depresión inicial de la síntesis de RNA del huésped, la producción de ácido nucleico viral comienza, en la parte extranucleolar del núcleo, 6 horas después de la infección, luego de lo cual es transferido al citoplasma. Lépine³⁶ ha afirmado que los cuerpos de inclusión fluorescentes aparecen en el citoplasma cerca de la membrana nuclear alrededor de las 14-15 horas después de la infección, y que la progenie del virus infectante no fue detectada hasta 48 horas después de la infección. Nosotros hemos encontrado que, en células BHK₂₁ infectadas con virus rábico PM, el antígeno fluorescente específico aparece entre las 8 y 9 horas después de la infección, y que hay un período de eclipse de sólo 3 horas antes de que se produzca virus intracelular²⁷. Es muy probable, sin embargo, que la cinética de multiplicación del virus rábico varíe marcadamente en un sistema celular dado, según cual sea la cepa de virus y su historia de pasajes previos. Por esta razón, no tiene mucho sentido el entresacar datos de diferentes grupos que están trabajando con distintas cepas de virus; debe llevarse a cabo un estudio detallado del esquema de multiplicación de cada cepa de virus individualmente.

Junto con la aparición de antígeno fluorescente en el interior del citoplasma, se forman matrices amorfas conteniendo fibras que reemplazan las estructuras citoplásmicas normales³⁴. (Fig. 6). Estas matrices parecen corresponder a los corpúsculos de Negri que por largo tiempo han sido asociados a las células infectadas con rabia, pero aún no conocemos su naturaleza ni sus funciones. En los bordes de esas matrices se han observado viriones maduros y, en una fase posterior de la infección, dentro de ellas³⁴. El virus parece también formarse y/o liberarse por un proceso de brotación de las vacuolas intracitoplásmicas y, en grado menor, de la superficie celular. Sin embargo, la mayoría de las células infectadas no se rompen y, según puede observarse por microscopía electrónica, el virus liberado

por brotación de la superficie celular es mínimo comparado con el número de partículas que se encuentran dentro de la célula³⁴. Sin embargo, ocurre formación de antígeno viral en la superficie celular, y esto ha llevado al descubrimiento de un fenómeno intrigante y aún no estudiado en forma completa. Cultivos celulares crónicamente infectados, con hasta el 100% de sus células con fluorescencia específica, se lisan si son expuestos a suero antirrábico conteniendo complemento^{37, 38}. Se ha obtenido evidencia, por un ensayo de tipo trasplante, de que el virus rábico puede conferir a sus células huéspedes nuevos determinantes antigénicos (Defendi y col., trabajo no publicado). Si este fenómeno también ocurre durante la infección "in vivo", la variación antigénica inducida de las células puede ser un determinante de importancia del curso de la patogénesis de la infección vírica. Esta es una posibilidad que bien vale la pena se la estudie más.

c) Inhibidores.

Por el uso de inhibidores metabólicos, se ha establecido razonablemente que el virus rábico contiene RNA. Por ejemplo, el crecimiento del virus no es inhibido, y frecuentemente es reforzado, por la presencia en el medio de cultivo de actinomicina D, mitomicina C, o fluorodeoxiuridina, todos inhibidores de la síntesis DNA o RNA dependiente del DNA³⁹. De hecho, el virus rábico puede multiplicarse en ausencia completa de toda síntesis de DNA⁴⁰. Fue interesante encontrar, por consiguiente, que la multiplicación del virus rábico era notablemente inhibida por un potente inhibidor DNA: arabinosil-citosina (ara-C)⁴⁰. Esta inhibición se observó en todas las líneas celulares analizadas; ningún otro de los virus RNA examinados fue inhibido más que levemente. El efecto inhibitorio pudo ser parcial o completamente revertido, agregando actinomicina D, nogalamicina, puromicina, o cycloheximida durante las primeras tres horas de multiplicación viral, en presencia de ara-C. Esto indica que la acción inhibitoria ocurre en una etapa muy precoz de la multiplicación viral, y que requiere la inducción de una proteína celular (Campbell y col., trabajo a ser publicado). El mecanismo de esta proteína inhibidora es completamente desconocido.

Además de revelar un nuevo mecanismo inhibidor de ara-C, las observaciones anteriores pueden resultar de valor práctico en el tratamiento de las infecciones rábicas. La arabinosil-citocina es un agente extremadamente tóxico; su utilidad como inhibidor de la rabia "in vivo" está limitada por el hecho de que es rápidamente deaminado transformándose en arabinosil uracil que es inactivo. Sin embargo, puede ser posible encontrar una sustancia análoga a la ara-C que induzca la formación de la proteína inhibidora, que no sea reducida por deaminasas, y que no tenga el efecto tóxico de la última. Tal sustancia análoga sería de gran valor, no sólo en el tratamiento antirrábico de post-exposición, sino también en el terreno de la biología molecular, como un inhibidor altamente selectivo del virus rábico.

III. — PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS.

Recientes estudios morfológicos³⁴ han revelado que las partículas de virus rábico intracelular no son polimorfas, como sugirieron antes varios investigadores. Son en forma de bala de cañón, esto es, cilíndricas, con un extremo redondeado y otro chato (Fig. 5).

El diámetro de las partículas es de 75-80 milimicrones y su largo es variable, siendo las más largas de 180 milimicrones. En cortes transversales, el virus presenta un centro de unos 40 milimicrones de diámetro. Rodeando este centro, excepto en el borde chato, hay una densa membrana con un ribete de proyecciones radiadas. Una cortadura dentada, similar a las muescas de las flechas, es visible en el extremo chato. Las proyecciones son de 60-70 Å de largo y en el extremo libre tienen una estructura en forma de manija. La superficie de la partícula vírica se presenta en hexágonos, en un arreglo similar a los panales. Preparaciones de virus rábico extracelular obtenidas por concentración y purificación de líquido de cultivo de tejido infectante, contenían partículas con las mismas características morfológicas (F. Sokol, trabajo a ser publicado). Naturalmente, una apreciable proporción de las partículas estaban parcialmente destruidas debido a la manipulación del virus durante la purificación. La única variable en la morfología del virus rábico parece ser el largo de las partículas en forma de bala. Las formas bizarras observadas ocasionalmente, que muestran algunas características de las partículas de virus rábico, pueden representar o no formaciones que surgen durante la purificación y preparación de las muestras para microscopía electrónica, o formas abortivas sintetizadas durante las últimas etapas de la infección, cuando la habilidad sintetizante de las células huésped ya está dañada.

Casi nada se sabe sobre la estructura química y antigénica del virus rábico. Como se discutió antes, las evidencias sustanciales aunque indirectas, sugieren que contiene RNA. El ácido nucleico intacto no ha sido, sin embargo, aislado. No se conoce la localización del RNA dentro de la partícula vírica, pero probablemente está incluido en el centro. El hecho de que la infectividad de una preparación de virus rábico se vea destruida o marcadamente reducida por tratamiento con solventes de los lípidos o agentes capaces de emulsificar lípidos, sugiere que las partículas contienen lípidos como componentes de su estructura³⁵. La proteína del virus consiste probablemente en varios componentes, según lo que puede esperarse debido a la estructura compleja de la partícula. Una de las envolturas proteicas es capaz de aglutinar varias especies de eritrocitos. Sin embargo, la hemaglutinina del virus rábico parece no estar asociada con una enzima capaz de destruir los receptores de los glóbulos rojos de la sangre (Halonen, trabajo no publicado).

La constante media de sedimentación de las partículas de virus rábico es de 600 S²⁰. Una proporción apreciable de la actividad fi-

jadora del complemento y casi toda la actividad hemaglutinante contenida en el líquido de cultivo de tejido infectado sedimenta junto con las partículas infecciosas (F. Sokol y col., trabajo no publicado). Los resultados de estas experiencias revelan que las partículas víricas son heterogéneas con respecto a la velocidad de sedimentación. En forma similar, las preparaciones de virus rábico consisten en partículas de diferente densidad boyante en solución de CsCl, siendo la densidad media de 1.20²⁶.

Progresos sustanciales en el estudio de las propiedades físicas y químicas, así como de la estructura antigénica del virus rábico, solamente serán posibles cuando haya disponibles para el análisis cantidades suficientes de virus altamente purificado. Se han hecho intentos de purificar el virus rábico de suspensiones de cerebro infectado, pero los procedimientos propuestos fueron sólo parcialmente eficaces⁴²⁻⁴⁴. Recientemente, el virus rábico fue purificado por el siguiente procedimiento²⁶ (Sokol y col., trabajo no publicado). El virus fue primero precipitado por acetato de zinc y el precipitado se disolvió en una solución saturada de sal disódica de etilen-diaminotetracetato. El virus fue entonces centrifugado a través de una solución de sacarosa al 10% colocada sobre una capa de sacarosa 60%. Después de tratamiento con ribo y deoxiribonucleasa fue finalmente centrifugado en gradiente del 10 al 60% de sacarosa (Fig. 12). La preparación final aún contenía aproximadamente 25% de componentes del huésped. Ahora están haciéndose intentos para reducir esta contaminación.

La tarea más urgente es la correlación de las características morfológicas del virus con su estructura química y antigénica. La reducción de las partículas virales por varios medios (solventes de lípidos, agentes tensio-activos, enzimas proteolíticas o lipolíticas), y la separación de los productos de reducción y determinación de sus propiedades químicas, físicas y antigénicas serán los procedimientos más adecuados para la elucidación de este problema. Tal estudio incluiría también la caracterización del RNA viral aislado (tamaño, composición básica, estructura secundaria, etc.).

Como se afirmó antes, el largo de las partículas de virus rábico es variable. Hemos obtenido alguna evidencia de que existen formas más cortas y más largas del virión, junto con partículas de tamaño intermedio. Se está intentando aislar las partículas más cortas en una forma pura para determinar si son capaces de infectar a las células susceptibles, y comparar su composición química con la de las partículas víricas completas (posiblemente, menor contenido de RNA, o falta de algún componente proteico). La posible interferencia de las partículas cortas, si existen y no son infecciosas, con la multiplicación del virus puede ser un factor importante en la determinación de la patogenicidad del virus.

Ensayo en placa y estudios genéticos — El mayor inconveniente en el estudio del virus rábico es la falta de técnicas. La inoculación

en ratones es aún un procedimiento importante para el aislamiento y la titulación del virus, para la prueba de seroneutralización y para la determinación del valor antigénico de las vacunas. Hasta recientemente no había forma de estudiar la progenie de una partícula viral y compararla con otro material genéticamente homogéneo, pero este estado de cosas ha cambiado con el desarrollo de sistemas de placas para el estudio del virus rábico. Yoshino y col.⁴⁵ han descrito un sistema de placas para unas pocas cepas de virus rábico adaptadas a huevo, pero su método no es aplicable a todas las cepas. En los últimos meses hemos desarrollado un método que sirve para todas las cepas conocidas de virus fijo, propagadas en cultivo de tejido, tejido cerebral o en embriones de pollo⁴⁶. Básicamente, el método involucra la dispersión de una capa fina de células en medio conteniendo agarosa sobre una capa de medio solidificado en una caja de Petri. El virus es entonces inoculado en la superficie de las capas de células solidificadas, y las cajas se incuban a 35°C durante 6-10 días según la cepa de virus. Se agrega entonces una capa adicional de medio semisólido conteniendo rojo neutro, lo cual hace visible las placas (Fig. 13). La línea celular usada es una sublínea de las células BHK₂₁, clona 13, seleccionada por su habilidad en multiplicarse en cultivos suspendidos.

Esta prueba de placa es usada rutinariamente en nuestro laboratorio para la titulación del virus, para la prueba de seroneutralización, y también para clonar el virus. Cepas purificadas por placa están siendo usadas en forma exclusiva para todas las investigaciones que involucran concentración, purificación y estudio de los componentes antigénicos. Aunque no se ha realizado aún una comparación definitiva entre el ensayo de placa y la inoculación en ratones, nosotros tenemos indicaciones de que el sistema de placa es el más sensible de los dos, y ciertamente es el más conveniente.

En el presente, estamos tratando de aislar mutantes de varias cepas de virus y tipificarlas de acuerdo a las marcas genéticas que, con otros virus, han sido encontradas generalmente asociadas al grado de virulencia o atenuación de cada cepa. Por ejemplo, la sensibilidad a la inhibición por polímeros aniónicos es una propiedad frecuentemente asociada con cepas de virus no virulentas, igual que la imposibilidad de multiplicarse a temperaturas altas (más de 37°C) y la inestabilidad a pH bajo (menos de 7). El ensayo de placa permite hacer un cuidadoso estudio de estos parámetros, y puede llevar a la selección de una cepa de virus más eficaz para la producción de vacuna.

REFERENCIAS

- ¹ Atanasiu, P. C. *R. Acad. Sci. (Paris)*, 261: 277-279, 1965.
- ² Constantine, D. G. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 77: 287-289, 1962.
- ³ Dean, D. J.; Evans, W. M.; McClure, R. C. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 29: 803-811, 1963.

- ⁴ Johnson, R. T. *J. Neuropaht. exp. Neurol.* 24: 662-674, 1965.
- ⁵ Yamamoto, T.; Otani, S.; Shiraki, H. *Acta neuropath.*, 5: 288-306, 1965.
- ⁶ Baer, G. M.; Shanthaveerappa, T. R.; Bourne, G. H. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 33: 783-794, 1965.
- ⁷ Borodina, T. A. *Probl. Virol.* (N. Y.), 4: 96-100, 1959.
- ⁸ Krause, W. W. En: *International Symposium on Rabies*, Talloires, France, 1965. Karger, Basel-New York, 1966.
- ⁹ Sikes, R. K. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 1041-1047, 1962.
- ¹⁰ Bell, J. F. *J. infect. Dis.*, 114: 249-257, 1964.
- ¹¹ Bell, J. F.; Lodmell, D. F.; Moore, G. J.; Raymond, G. H. *J. Immunol.*, 97: 747-753, 1966.
- ¹² Koprowski, H.; Van der Scheer, J.; Black, J. *Amer. J. Med.* 3: 412-420, 1950.
- ¹³ Balthazard, M.; Ghodssi, M. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 10: 797-803, 1954.
- ¹⁴ Kuwert, E.; Bindrich, H. *Arch. exp. Vet.-Med.*, 12: 669-687, 1958.
- ¹⁵ Sabeti, A. M.; Bahmanyar, M.; Ghodssi, M.; Balthazard, M. *Ann. Inst. Pasteur*, 106: 303-307, 1964.
- ¹⁶ Habel, K. *Ergebn. Mikrobiol.*, 38: 39-54, 1964.
- ¹⁷ Soave, O. A. *Amer. J. vet. Res.*, 25: 268-269, 1964.
- ¹⁸ Wiktor, T. J. En: *XVIII World Veterinary Congress*, Paris, vol. 1, p. 231-234, 1967.
- ¹⁹ Svehag, S. E.; Mandel, B. *J. exp. Med.*, 119: 1-20, 1964.
- ²⁰ Wright, J. T.; Habel, K. *J. Immunol.*, 60: 503-515, 1948.
- ²¹ Johnson, H. N. En: *Viral and Rickettsial infections of man*. Philadelphia, Lippincot, pp. 814-840, 1965.
- ²² Kuwert, E. *Arch. Hyg. (Berl.)*, 151: 130-145, 1967.
- ²³ Fenner, F. En: *Viral and rickettsial infections of man*. Philadelphia, Lippincott, pp. 356-384, 1965.
- ²⁴ Ross, E.; Armentrout, S. A. *N. Engl. J. Med.* 266: 1097-1099, 1962.
- ²⁵ Grasset, N. En: *International Symposium on Rabies*, Talloires, France, 1965. Karger, Basel-New York, 1966.
- ²⁶ Neurath, R.; Wiktor, T. J.; Koprowski, H. *J. Bact.*, 92: 102-106, 1966.
- ²⁷ Kaplan, M. M.; Wiktor, T. J.; Maes, R. F.; Campbell, J. B.; Koprowski, H. *J. Virol.*, 1: 145-151, 1967.
- ²⁸ Stewart, W. W.; Sulkin, E. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* (N. Y.), 123: 650-654, 1966.
- ²⁹ Wiktor, T. J.; Koprowski, H. *Bact. Proc. Abstracts*, p. 166, 1967.
- ³⁰ Lampson, G. P.; Tytell, A. A.; Field, A. K.; Hilleman, M. R. *Proc. Nat. Acad. Sci.* (Wash.), 58: 782-789, 1967.
- ³¹ Koprowski, H. En: *Cecil-Loeb textbook of medicine*. Philadelphia and London, Saunders, pp. 50-55, 1967.
- ³² Wiktor, T. J. y col. *J. Immunol.*, 93: 353-366, 1964.
- ³³ Wiktor, T. J. En: *National Rabies Symposium*, Atlanta, Ga., U. S. Department of Health, Education, and Welfare, pp. 9-14, 1966.
- ³⁴ Hummeler, K.; Koprowski, H.; Wiktor, T. J. *J. Virol.*, 1: 152-170, 1967.
- ³⁵ Sokolov, N. N. y col. *Acta Virol*, 11: 40-46, 1967.
- ³⁶ Iépine, P. *Jap. J. exp. Med.*, 36: 255-267, 1966.

- ³⁷ Fernández, M.; Wiktor, T. J.; Koprowski, H. *J. exp. Med.*, 120: 1099-1116, 1964.
- ³⁸ Wiktor, T. J. *Fed. Proc.*, 26: 482, 1967.
- ³⁹ Defendi, V.; Wiktor, T. J. En: *International Symposium on Rabies*, Talloires, France, 1965. Karger, Basel-New York, 1966.
- ⁴⁰ Maes, R. F.; Kaplan, M. M.; Wiktor, T. J.; Campbell, J. B.; Koprowski, H. *The molecular biology of viruses*. New York and London, Academic Press, pp. 449-462, 1967.
- ⁴¹ Kissling, R. E.; Reese, D. R. *J. Immunol.*, 91: 362-368, 1963.
- ⁴² Thomas, J. B.; Ricker, A. S.; Baer, G. M.; Sikes, R. K. *Virology*, 25: 271-275, 1965.
- ⁴³ Muller, R. H. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* (N. Y.), 73: 239-241, 1950.
- ⁴⁴ Sawai, Y.; Yanaka H.; Makino, M. A.; Kikuchi, K. *Jap. J. Bact.*, 9: 509-512, 1954.
- ⁴⁵ Yoshino, K. S. y col. *Arch. Virusforsch.*, 18: 370-373, 1966.
- ⁴⁶ Sedwick, W. D.; Wiktor, T. J. *J. Virol.*, 1: 1224-1226, 1967.

CUADRO I

**Presencia del factor lítico en varias fracciones del
suero antirrábico humano**

Fracciones del suero	Eluyente M 0.0175 PO ₄ + ClNa	Inmunoglobulinas presentes	Título de seroneutralización	Título lítico
Total		Todas	≥ 320	64
Dialisado		Todas	≥ 320	32
1	0,0 M	G	320	16
2	0,05 M	G + A	≥ 80	8
3	0,10 M	G + vestigios de A	80	4
4	0,15 M	Vestigios de G	20	< 2
5	0,20 M	M	10	< 2
6	0,50 M	M	< 10	< 2
7	1,0 M	Ninguna	< 10	< 2

Están representadas en este cuadro las fracciones del suero antirrábico que tienen actividad lítica. El suero antirrábico fue fraccionado a través de la columna cromatográfica y se estudió la actividad lítica y la actividad neutralizante de las diferentes fracciones. Se observa que la gamma globulina posee la máxima actividad lítica; la misma fracción tiene también el mayor título de actividad neutralizante.

CUADRO II

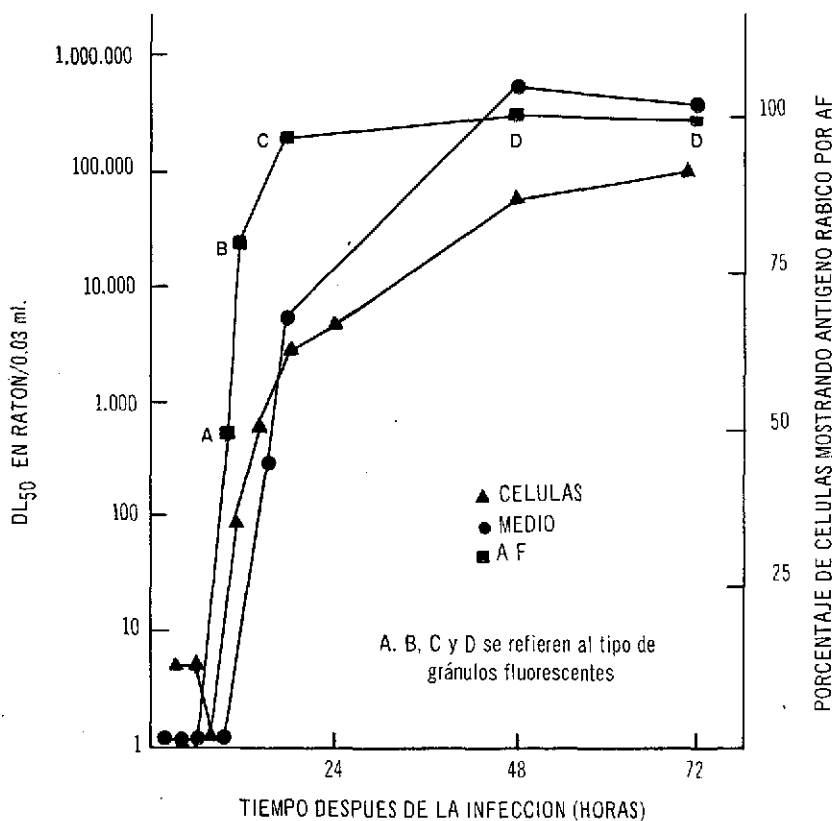
**Liberación de cromo radioactivo de las células expuestas al
suero antirrábico**

Suero	30 minutos Calentado a 56°C	Agregado de complemento	CPM en el medio	% de cromo libre en el medio
Agua destilada	—	—	940	100
Suero de ternero	+	+	135	14,4
Antirrábico	—	—	600	64,0
Antirrábico	+	—	144	15,3
Antirrábico	+	+	677	72,0

Otro método para controlar el fenómeno lítico: marcando las células infectadas con rabia por medio de cromo radioactivo. Las células son sometidas a lisis y luego se mide el cromo liberado por medio de un contador.

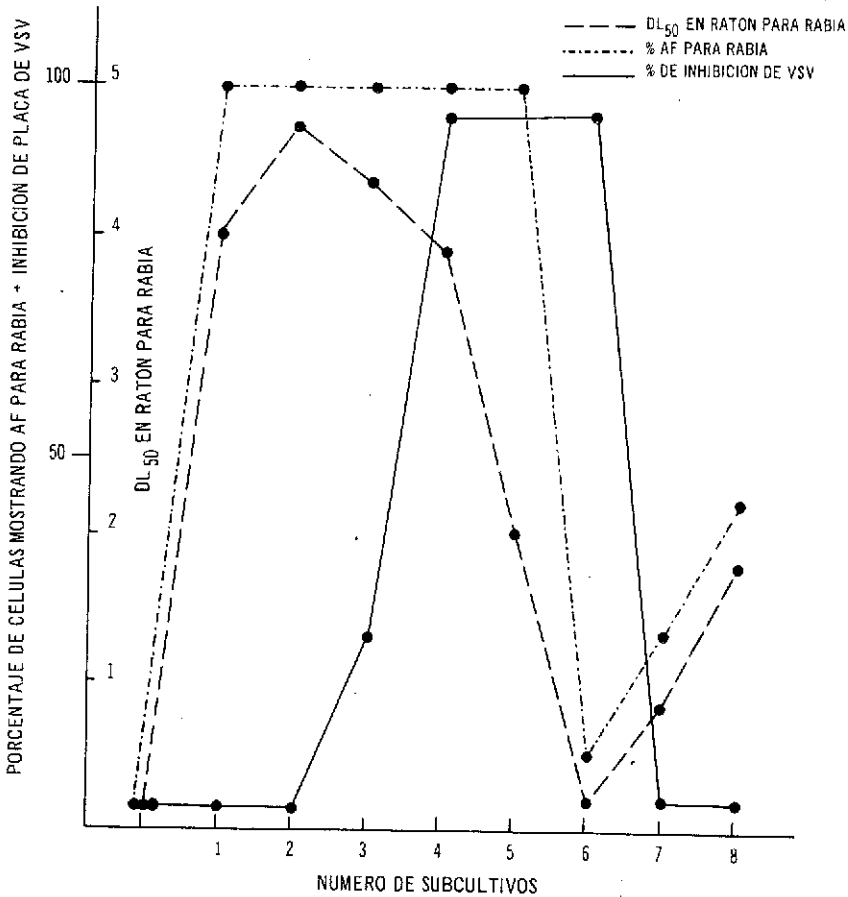
Gráfico I

CURVA DE CRECIMIENTO DEL VIRUS RABICO EN CELULAS B H K / 21

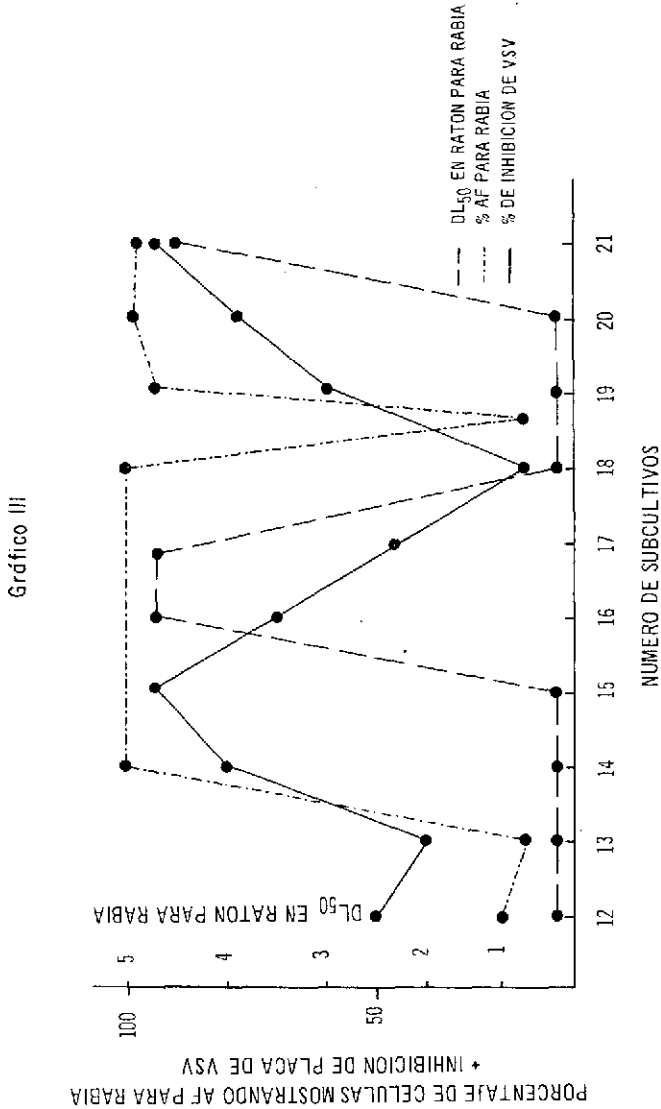


Puede observarse que inmediatamente después de la infección inicial el virus infectante desaparece completamente; es un período de eclipse de alrededor de 3 horas. Los primeros antígenos fluorescentes aparecen alrededor de 6 horas después de la infección. En este momento, un 50% de las células muestran fluorescencia. Este porcentaje va creciendo en forma extraordinariamente rápida y ya a las 18-20 horas todas las células mostrarán la presencia de antígeno fluorescente. A las 72 horas más o menos la producción de virus alcanza su máximo, y luego el título desciende.

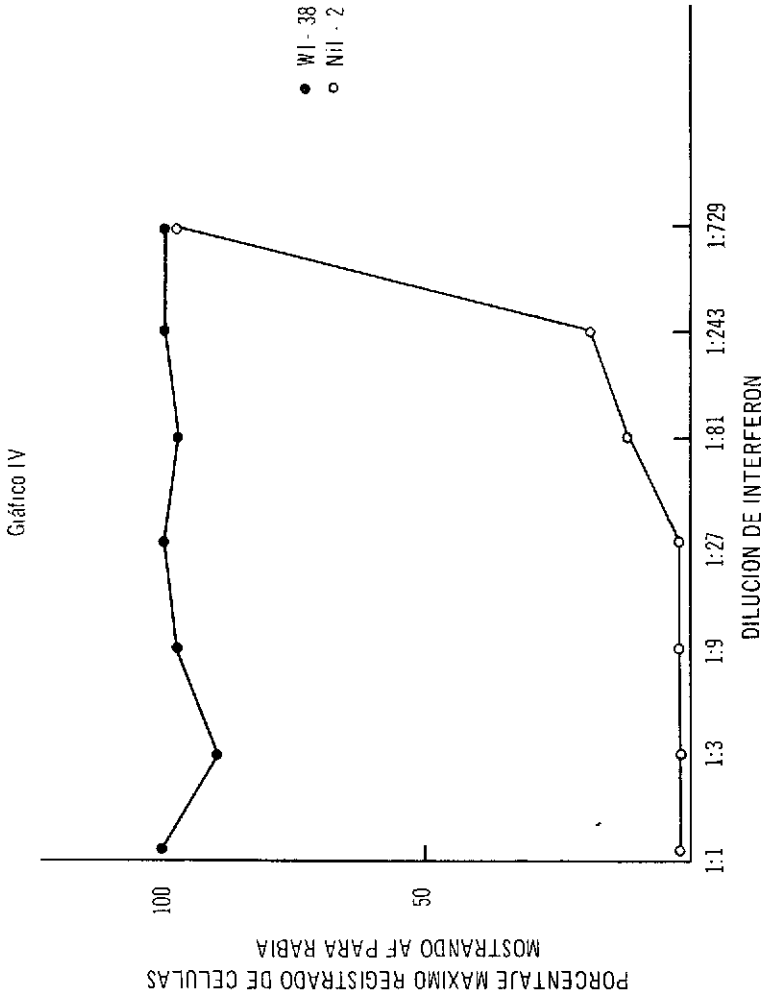
Gráfico II



Se infectaron células de hamster Nil-2 y el cultivo fue dividido a intervalos regulares de 3 ó 4 días. En cada división se determinaron los siguientes parámetros: porcentaje de células fluorescentes, título de infectividad en ratones, y resistencia de las células a la confrontación con virus VSV (estomatitis vesicular). Tres días después de la infección todas las células mostraban fluorescencia con producción de virus infeccioso. La producción máxima de virus ocurre a nivel de la segunda división con un título de alrededor de 4,5 logs. Pero en este momento, aún cuando las células están completamente infectadas —como lo demuestra la presencia de antígeno fluorescente y la producción de virus infeccioso— el cultivo es tan susceptible a la confrontación con VSV como las células control. Luego de unos pocos pasajes puede observarse que, repentinamente, el número de células fluorescentes baja. Las células fluorescentes comienzan a desaparecer del cultivo, el título de virus infeccioso también desciende y el cultivo comienza a hacerse resistente al virus VSV.

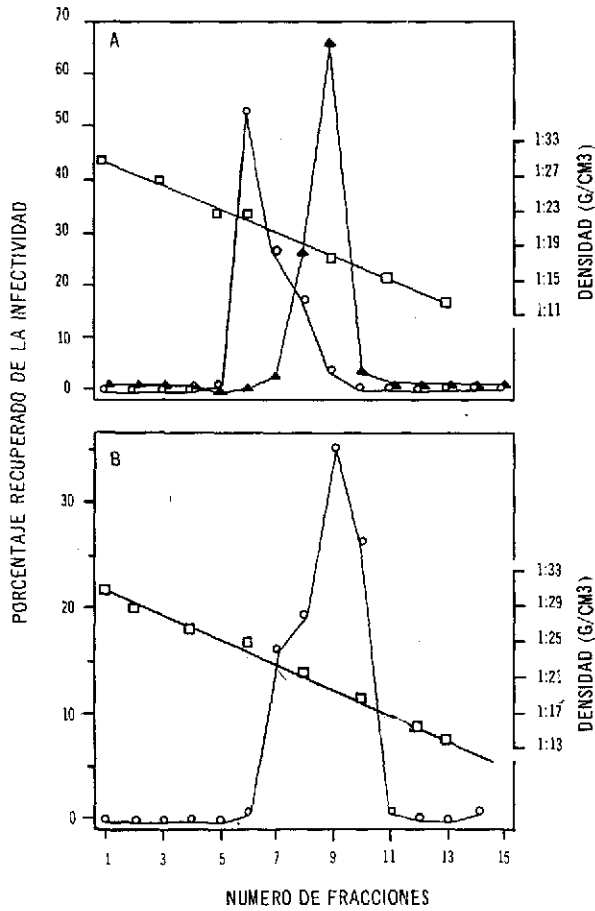


Se inicia un nuevo ciclo de infección, representado entre los pasajes 12° y 22°. Aquí hay dos ciclos más con alto y bajo nivel de infección. Una de las posibilidades del origen de este fenómeno podría ser la acción del interferón. No hay producción de interferón al comienzo de la infección celular, pero pudimos demostrar su presencia a partir del 4° ó 6° pasaje, cuando las células comienzan a perder su antígeno y a hacerse resistentes a la confrontación con virus VSV (estomatitis vesicular). La presencia de interferón fue determinada por los métodos clásicos: resistencia a pH bajo, resistencia a centrifugación a altas velocidades, e inhibición por acción de la tripsina.



Representamos aquí la especificidad del interferón en pruebas sobre células WI-38 de origen humano y Nil 2 de origen hamster. En las células de hamster, el interferón fue activo en la dilución 1 a 243, pero la misma preparación no mostró actividad alguna en células humanas.

Gráfico V



Empleando la técnica descrita en Fig. 12, pero con cloruro de cesio en lugar de sacarosa, se determinó que la densidad del virus rábico es 1,20 g/ml. Con material de cultivo de tejido concentrado y purificado por el método descrito se preparó una vacuna inactivada extremadamente potente.



Fig. 1

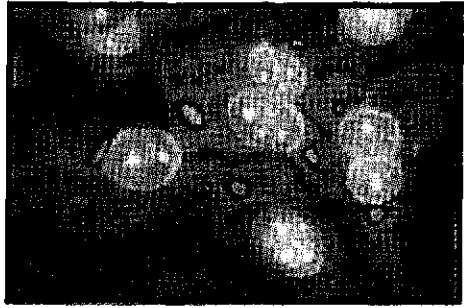


Fig. 2

FIG. 1. — En el cerebro de animales infectados y en cultivo de tejido, el virus rábico forma cuerpos de inclusión que se tiñen de rojo por la eosina y que corresponden a lo que llamamos corpúsculos de Negri.

FIG. 2. — La misma preparación teñida con naranja de acridina; las inclusiones están rodeadas por vacuolas.



Fig. 3

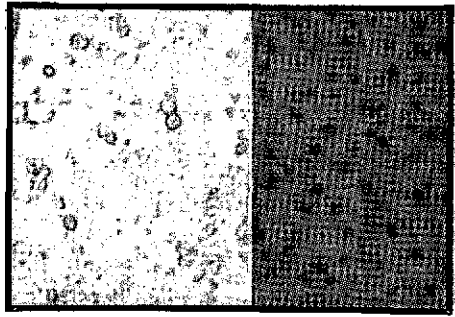


Fig. 4

FIG. 3. — Preparaciones similares coloreadas con anticuerpos fluorescentes muestran masas antigénicas de diferente tamaño dentro del citoplasma. El núcleo siempre está libre de inclusiones.

FIG. 4. — Esta es la forma de demostrar la aparición de la lisis. Las células infectadas con virus rábico son tratadas con suero antirrábico con y sin complemento. Se deja actuar al suero durante 30 minutos y luego se cubren las células con azul de tripano. En la serie de la izquierda, donde no hay complemento, las células no se lisan y no se tiñen. A la derecha, las células infectadas están lisadas y el colorante puede penetrar en el citoplasma y núcleo.

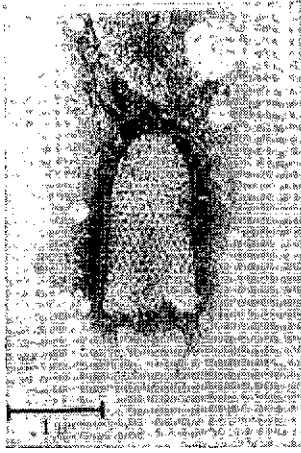


Fig. 5

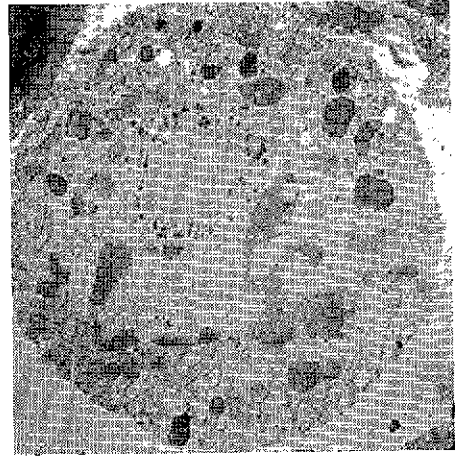


Fig. 6

FIG. 5. — Aquí está representada lo que consideramos ser la partícula vírica completa.

FIG. 6.—El virus rábico penetra en las células por pinocitosis. Pocas horas después de la infección se forman matrices amorfas, al mismo tiempo que aparece el antígeno fluorescente. En el borde de las matrices se forman las partículas virales, las cuales se liberan de las células muy pronto, ya sea dentro del citoplasma celular o —en menor grado— a través de la membrana celular.

FIG. 7.—Célula infectada, completamente llena de virus rábico; casi todo el citoplasma ha sido reemplazado por partículas virales. En esta preparación pueden verse partículas con su forma normal de bala o en secciones, con formación de tipo cristal. Es sumamente interesante observar que aún teniendo este tipo de infección a nivel celular el título de virus infectante a menudo no está en proporción con la cantidad de partículas virales. Definitivamente hay algo que anda mal en nuestro sistema de cultivo de tejido: o bien hay una cantidad de virus incompleto, o el virus está siendo inactivado tan rápidamente que el número de partículas físicas no corresponde al número real de dosis infectantes. Con millones de partículas virales por célula, sólo pudo obtenerse un máximo de 10 dosis infectantes por célula. Este problema debe ser estudiado cuidadosamente y, tal vez, mejorando la composición de nuestro cultivo de tejido podamos mejorar también el título de nuestra preparación. Este punto es muy importante puesto que para la preparación de vacuna inactivada el título de virus infectante debe ser lo más alto posible.

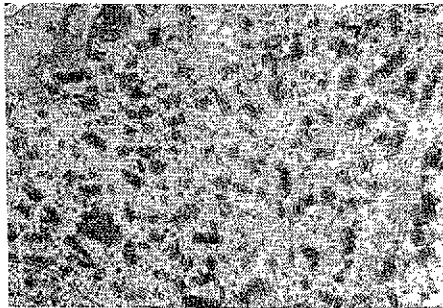


Fig. 7

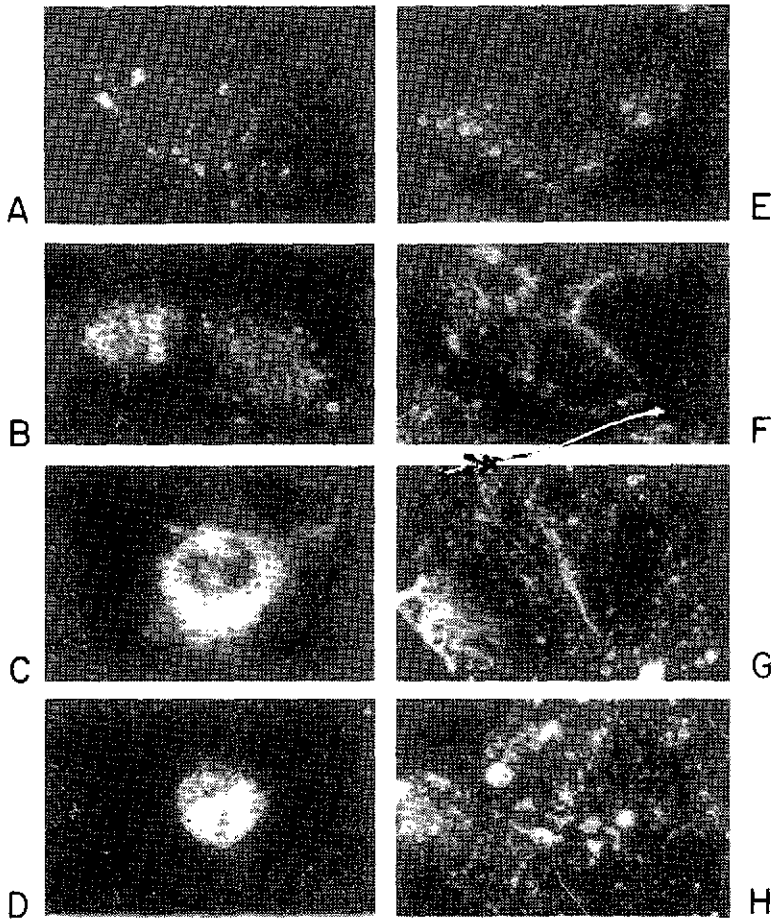


FIG. 8. — Una vez que el virus penetra la célula ya no es más sensible a la acción del suero antirrábico. Aquí se observan 2 series de experiencias; en la primera serie usamos suero antirrábico fresco, no inactivado, después de la infección. En la segunda serie empleamos suero antirrábico previamente inactivado. En esta secuencia de 24 horas puede observarse que, en presencia de suero antirrábico inactivado, el virus se multiplica dentro de las células, lo cual puede verificarse por la cantidad de antígeno fluorescente formado. En la serie donde el complemento está presente, el virus comienza a reproducirse durante las primeras 24 horas; luego, las células infectadas comienzan a dañarse y se lisan. Esto nos lleva a considerar un nuevo fenómeno: el suero antirrábico, en presencia del complemento, provoca la lisis de las células infectadas.

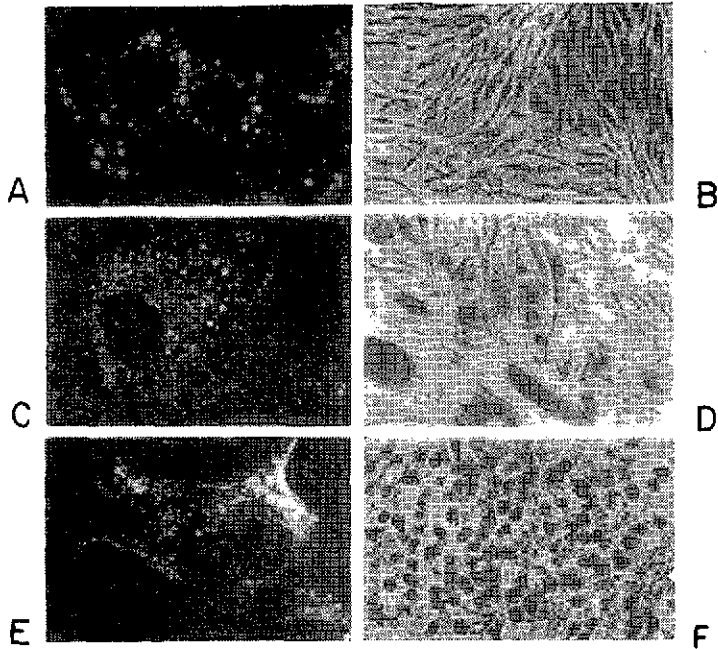


Fig. 9

FIG. 9.—Aquí podemos observar la relación entre la aparición de fluorescencia y la aparición de la lisis. Dentro de un período de 12 horas se forma antígeno fluorescente en el interior de las células, pero sólo alrededor de las 20 horas después de la infección, cuando el antígeno comienza a aparecer en la superficie celular, las células son susceptibles a la lisis.

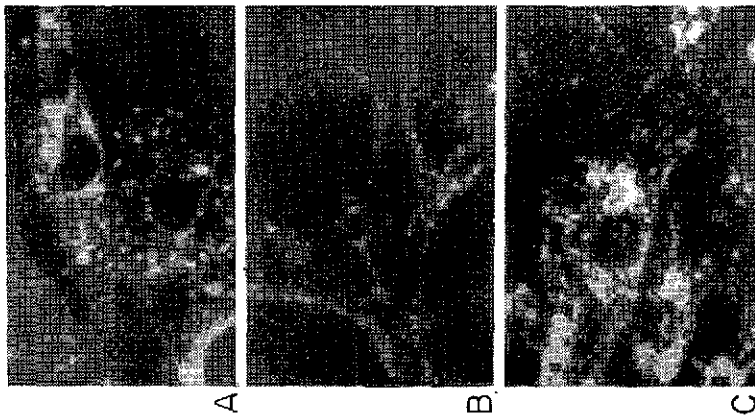


Fig. 10

FIG. 10.—Aquí el fenómeno se demuestra por medio de otras reacciones (v. fig. 4). Normalmente los anticuerpos no penetran las membranas celulares. En la parte central de esta figura, las células infectadas no fijadas fueron tratadas con conjugado antirrábico; el interior del citoplasma no está teñido, pero en los bordes de la membrana celular puede verse la aparición de gránulos fluorescentes. En la parte inferior C, el mismo cultivo, teñido con el conjugado pero en presencia de complemento; la membrana celular se hace permeable a los anticuerpos y las inclusiones celulares son idénticas a la parte superior A, donde los cultivos fueron coloreados con conjugado después de la fijación con acetona.

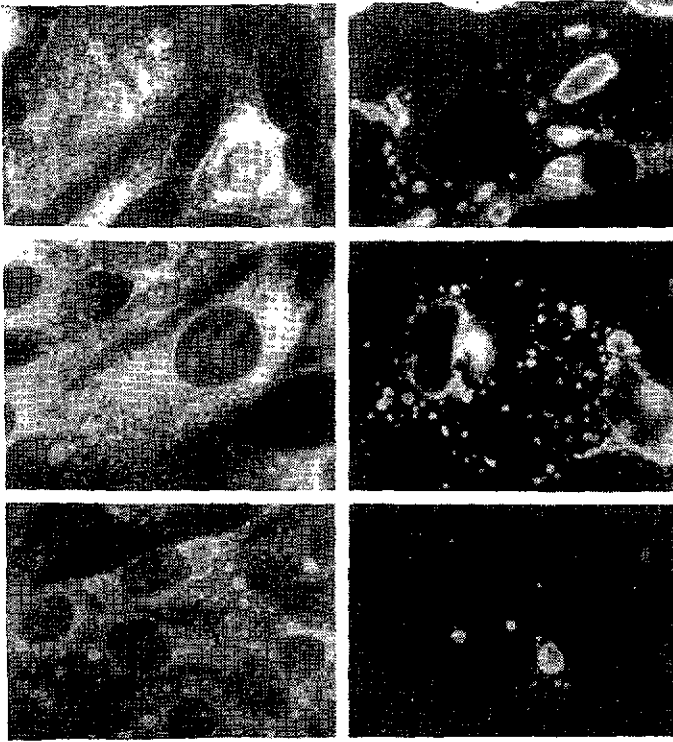


Fig. 11

FIG. 11.—Aquí puede observarse la secuencia de desaparición de la fluorescencia. En la primera, segunda y tercera divisiones, las células aún están repletas de antígeno rábico, pero al comienzo de la cuarta división las masas antigénicas empiezan a ser rotas y rechazadas por las células. En el sexto pasaje son muy pocas las células que muestran presencia de antígeno fluorescente.

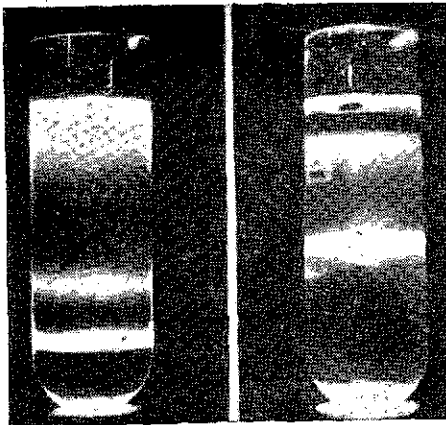


Fig. 12.—Uno de los procedimientos de centrifugación en gradiente. Primero el virus es concentrado por precipitación con zinc y luego se recoge sobre un colchón de sacarosa 60 % y 10 %. El virus se concentra en una banda angosta en el límite entre 10 % y 60 %. Si este material es corrido a través del gradiente normal de sacarosa del 10 % al 60 % el virus rábico forma una sola banda.

Fig. 12

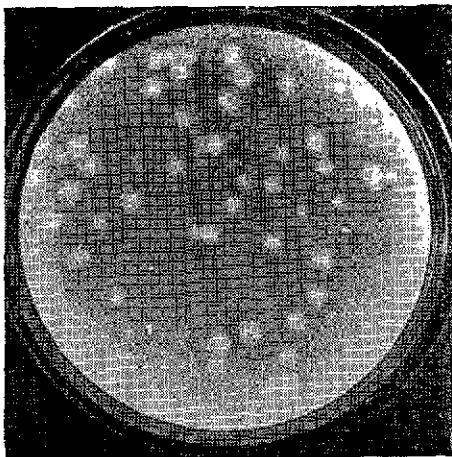


FIG. 13.—Placas típicas obtenidas con cepa Pitman-Moore en cultivo de tejido.

Comentarios

DR. WIKTOR — El año pasado el Instituto Wistar y el Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles de Atlanta, Georgia, fueron designados Centros de Referencia de la OMS para Rabia. Tanto en nombre del Dr. Sikes, aquí presente, como en el de todos los que trabajamos en el Instituto Wistar, quiero hacerles saber que nos sentiremos siempre gustosos de facilitarles toda la información de que disponemos, tanto sobre el material, líneas y cepas celulares, como sobre los reactivos, antígenos y globulinas conjugadas. Uds. pueden ponerse en contacto con nosotros en cualquier momento y enviarnos, tanto al Dr. Sikes como a mí, todas las cepas cuyo diagnóstico quieran confirmar, o aquellas de difícil cultivo.

DR. SOAVE — Nosotros hemos realizado algunos trabajos sobre interferón y, por lo menos en lo que respecta a los ratones "in vivo", estoy de acuerdo con el Dr. Wiktor en que, o bien el virus rábico es un pobre productor de interferón, o lo produce tarde; nosotros no hemos observado protección alguna y creo que en Inglaterra les ha pasado lo mismo. En una publicación reciente se informa que se obtuvo alguna protección contra el virus rábico, "in vitro", por inducción de interferón en cultivo de tejido por el virus de influenza.

DR. WIKTOR — Hasta ahora nosotros hemos conseguido resultados solamente con cultivo de tejido; hemos podido proteger cualquier sistema de cultivo de tejido por interferón producido por virus rábico así como por otros virus. Ahora estamos trabajando con interferón producido por virus West Nile; pudimos obtener virus de

alto título y estamos llevando a cabo dos experiencias para determinar la posibilidad de proteger animales con ese interferón. Recuerdo que ya hace algunos años el Dr. Habel hizo algunas experiencias con resultado negativo, pero tal vez no contaba con un título tan alto de interferón. Nosotros esperamos poder obtener buenos resultados y la protección de los cultivos de tejido tendrá sólo valor académico.

DR. HABEL.—El Dr. Wiktor y sus colegas han desarrollado técnicas que actualmente están siendo usadas universalmente para el estudio cuantitativo de los virus a nivel celular. Uds. se preguntarán qué importancia tiene un estudio fundamental de este tipo, en un sistema de cultivo de tejido infectado con virus rábico, para la solución de problemas prácticos: la rabia como enfermedad infecciosa y su prevención. Yo creo que es importante recordar que, después de todo, el animal está formado por células, y lo que sucede al animal —que se manifiesta como enfermedad o síntomas patológicos— es el resultado de lo que sucede en cada una de sus células. Lógicamente “in vivo” la situación es más compleja, pues tenemos relaciones intercelulares, respuestas inmunológicas, producción de varios inhibidores. Sin embargo, hasta no hace mucho todos creíamos que el virus rábico era neurotrópico. Y ahora nos encontramos con que ese virus, que sólo se multiplicaba en tejido nervioso, puede también multiplicarse en fibroblastos y todo tipo de células de una amplia variedad de especies animales. Es cierto que tiene que influir, a nivel de la infección animal, el hecho de qué estudios de patología experimental hayan demostrado que el virus persiste, y quizás se multiplica, en el lugar de la inoculación. De manera que todo lo que hemos oído no sólo tiene importancia desde el punto de vista de posibilitar el desarrollo de mejores vacunas, que ya es mucho, sino también para comprender mejor lo que sucede en el animal infectado.

Con respecto al interferón, nosotros hemos obtenido los mismos resultados ya mencionados por los demás. Hemos usado interferón de título alto producido por inoculación intravenosa de virus NDV (Newcastle). Hemos inoculado el interferón pasivo tanto por vía intramuscular como por vía endovenosa sin conseguir ninguna evidencia de protección. Además, hemos inducido la producción de interferón en el animal que iba a ser confrontado inoculándole virus NDV por vía endovenosa; 6 horas más tarde el animal tenía un alto título de interferón producido en su propio suero, pero al inocular virus rábico intramuscularmente no hubo señales de protección.

DR. JOHNSON.—Nosotros estamos interesados en conseguir un buen sistema tisular para aislamiento primario de virus calle de animales infectados naturalmente. De acuerdo con mi experiencia, las células primarias de riñón de hamster son el mejor sistema; nosotros no hemos podido aislar cepas de calle de virus rábico en células

BHK, ni tampoco con HeLa o con células de riñón de mono. Las células de riñón de zorrino y de zorro son particularmente buenas para el aislamiento de virus rábico, así como para el cultivo del virus de influenza B.

Con el sistema de cultivo de tejido, se puede cambiar diariamente el líquido lo cual permite aumentar el título del virus; hacia el 7º día se puede obtener un título de 10^4 . El secreto entonces es cambiar el líquido y prevenir la acumulación de interferón, reemplazarlo con líquido fresco y cosechar a los 2 ó 3 días cuando se espera que el título esté en su máximo. Creo que entre lo que ha informado el Dr. Wiktor hay algo sumamente importante, y es el método por formación de placas. Estoy seguro de que todos esperamos verdaderamente con ansias el momento en que esta técnica pueda usarse para la rabia y para la selección de cepas de virus.

DR. SIKES — Me interesaría saber si se han hecho algunos ensayos sobre la utilización del método de placas para la prueba de neutralización. Nosotros estamos ansiosos por terminar con el uso de los ratones para esa prueba. ¿Han hecho Uds. titulaciones comparativas con ambos métodos?

DR. WIKTOR — En respuesta a la observación del Dr. Johnson, parecería que el estudio metabólico de las células durante la infección puede tener importancia sobre la reproducción del virus rábico. Las células en etapa estacionaria, con un metabolismo bajo, producirán más virus que aquellas que estén en desarrollo activo. El mismo resultado puede obtenerse bloqueando el metabolismo de DNA; también en este caso aumentará el título del virus.

Nosotros hemos realizado unas 12 pruebas de seroneutralización comparando la inoculación en ratones y el cultivo de tejido, y los resultados han sido generalmente más altos, en una dilución o más, en cultivo de tejido. Usamos generalmente alrededor de 40 unidades formadoras de placas por caja de Petri, comparables a unas 40 DL_{50} en ratones. Los títulos más altos obtenidos en cultivo de tejido podrían explicarse por el hecho de que el inóculo de 40-60 DL_{50} en ratones corresponde probablemente a más de 100-600 unidades formadoras de placas, y si uno realiza la prueba contra menor cantidad de virus a ser neutralizado los resultados son diferentes. Si se usara la misma cantidad de virus para la neutralización, entonces la prueba sería comparable en ratones y en cultivo de tejido.

DR. KAPLAN — Yo realicé una serie de experiencias usando una masa específica de interferón inoculada en ratones por vía intracerebral e intraplantar infectando luego los animales con virus rábico. El interferón no confirió protección alguna, aunque es difícil decir si esto fue sólo en función del título y si la cantidad de interferón fue insuficiente.

El Dr. Wiktor habló de usar la sustancia llamada DEAE-dextran para infectar todas las células con virus al mismo tiempo. Al trabajar con virus rábico en cultivo de tejido, nos encontramos con una dificultad para la construcción de la curva de crecimiento: uno nunca puede infectar todas las células al mismo tiempo de manera de estar seguro de que todas están funcionando y multiplicando virus y poder así observar lo que sucede en el momento en que el virus entra en la célula y se produce una nueva partícula viral. Y esto nos lleva al problema de cómo la partícula viral se fija a la célula y penetra en ella. El Dr. Hummeler ha tomado una serie de fotografías por medio del microscopio electrónico, mostrando a la partícula del virus sobre la superficie de la célula y cómo va penetrando dentro del citoplasma. En 15 minutos la partícula ha llegado al centro del citoplasma, antes de que ocurra la fase de eclipse y aparezca una nueva partícula viral. Una parte del mérito de los primeros trabajos con microscopio electrónico es para el Dr. Atanasiu, que publicó algunos de ellos hace un tiempo. Pienso que podremos verlos más adelante en este Seminario y Uds. observarán que la partícula tiene la forma de bala de cañón. Es sorprendente, pero esta partícula en forma de bala se parece, desde el punto de vista morfológico, a una serie de otras partículas virales de naturaleza completamente diferente. Por ejemplo, se parece a la partícula Sigma del virus de la mosca *Drosophila*, con el cual ha trabajado algo el Dr. Atanasiu; al virus coccal, que ha sido aislado de roedores de campo en América Central; y también al virus X-ved que causa septicemia hemorrágica en la trucha. Estos virus están todos colocados en un grupo morfológico llamado de los *virus en forma de bala de cañón*, que puede formar un grupo viral propio. Hasta ahora se consideró al virus rábico como formando parte de los mixovirus. Sin embargo, su estructura morfológica parece no permitir su inclusión en este grupo. Pero el descubrimiento de que el virus rábico produce hemaglutininas puede volver a ponerlo dentro de los mixovirus. Según parece, no hay evidencias de ninguna relación serológica entre el virus de la rabia y todos los demás mencionados. La semejanza es puramente morfológica. Todos estos hallazgos dan lugar a numerosos problemas relativos a la historia evolutiva del virus rábico; cuál fue el prototipo o los antecesores de este virus, dónde se separó de ellos. La respuesta a estas preguntas podría darnos una mejor visión de la historia natural de la rabia en los animales silvestres, y aclararnos si comenzó como un virus de las glándulas salivales o de qué otra forma.

Volviendo al DEAE-dextran; cuando esta sustancia rodea al virus, hace que éste infecte el 100% de las células del cultivo. Nosotros no sabemos por qué ocurre este fenómeno, pero pensamos que es debido a una carga eléctrica conferida a la partícula viral por el dextran. El virus rábico normalmente es negativo, igual que la superficie de las células del cultivo. Por consiguiente, para conse-

guir que las células se infecten es necesaria una concentración de partículas virales. Nosotros no sabemos aún cuál es la dosis infectante, pero el hecho de que el DEAE-dextran tiene una carga positiva puede explicar la razón de que, cuando se suspende el virus rábico en este compuesto y se coloca en un cultivo, se produzca la atracción eléctrica necesaria para que la partícula viral entre en la célula más fácilmente. Puede haber una relación entre este hecho y la necesidad de una cierta dosis infectante para el animal; simplemente es necesario que haya una determinada cantidad de partículas de virus para que penetren en la célula o grupo de células, se multipliquen en ellas y sigan haciéndolo hasta que pase el período de incubación y se desarrolle enfermedad clínica. Esto no explica, sin embargo, lo que sucede en las infecciones crónicas o latentes, en las cuales el virus rábico puede continuar vivo durante largo tiempo en un grupo de células. La carga eléctrica, mencionada antes, puede ser una de las posibles explicaciones de la penetración del virus y puede tener algo que ver con la difusión local del virus.

¿Qué significado tiene el hecho de que el suero antirrábico no neutraliza al virus 3-5 minutos después de ponerlo en contacto con las células con respecto al tratamiento local de las heridas? Nosotros decimos siempre que se debe lavar la herida inmediatamente con jabón y agua, o aplicar diferentes productos químicos, tales como alcohol, yodo, etc., para eliminar la mayor parte del virus o neutralizarlo con suero. Inclusive, si el virus penetra en unas pocas células, no serán suficientes como para producir una infección efectiva. No nos preocupa demasiado saber que la partícula de virus rábico penetra tan rápidamente en las células, escapando a la acción de cualquier suero que pueda ser aplicado en la zona. Esto no es motivo de contraindicación para la aplicación local de suero o de otras sustancias puesto que el fin principal es eliminar la mayor cantidad posible de virus del lugar de la herida.

DR. FERNANDES — Una de las cosas sobre las cuales podemos especular es sobre el sistema endosimbótico, que el Dr. Wiktor mencionó hace unos momentos. Podemos infectar todas las células de un cultivo y luego, por división, mantenerlo durante años. Nosotros lo hemos hecho durante 3 años, con el 100% de células infectadas y sin notar ningún efecto citopatogénico de ninguna clase; ni presencia de lisis, ni interferencia con el sistema mitótico, ni tampoco diferencia alguna entre las células infectadas y las células control.

"In vivo" puede darse una situación similar. Por ejemplo, supe hace poco de un caso que ocurrió en Venezuela; se trataba de una señora anciana que desarrolló rabia a los 3 años de la exposición. En este caso hubo algún grado de control. La señora fue mordida por un gato y desde ese momento, debido a un complejo contra los animales, se encerró en su casa y nunca más estuvo expuesta a ningún otro animal. Tres años más tarde murió de rabia, confirmada por diagnóstico. Parece que puede desarrollarse "in vivo" este tipo

de relación endosimbiótica, la cual es luego destruída por alguna tensión ("stress"), activándose el virus nuevamente.

DR. FUENZALIDA — En el Centro se está realizando actualmente un estudio sobre purificación de vacunas, que fue iniciado en Atlanta por el Dr. Larghi y el Dr. Sikes. Estos estudios están actualmente en una etapa experimental. Es importante para el futuro de las vacunas, obtener antígeno de la mayor pureza posible en la cual puedan eliminarse todas aquellas sustancias que van a competir con el antígeno rábico en la determinación de inmunidad; no me refiero a las sustancias que provocan accidentes. En este sentido, nosotros estamos haciendo aquí algunas experiencias con virus de cultivo de tejido en bovinos, y hemos obtenido resultados que van a ser comunicados dentro de algún tiempo y que demostrarían que el virus, al ser inoculado en estos animales, no se extingue fácilmente, porque la producción de anticuerpos tiene curvas variables, exactamente como si hubiera una especie de equilibrio entre anticuerpos y virus vivo existentes en el organismo, durante un largo tiempo. Estos anticuerpos, que tienen una especie de eclipse, en un momento dado vuelven a aparecer sin nuevo estímulo antigénico.

DR. LARGHI — Tuve la oportunidad de trabajar en el laboratorio del Dr. Sikes, siguiendo la técnica que desarrollaron Thomas y sus colaboradores, publicada en 1965. Thomas usó ecteola, que es un intercambiador aniónico, para purificar el virus rábico; esto concordaría con las observaciones de los Dres. Kaplan y Wiktor de que el virus rábico está cargado negativamente. Nosotros trabajamos con aquella técnica y desarrollamos una vacuna, que hemos comparado con las vacunas comerciales que se producen en Estados Unidos. Ahora la estamos comparando con la vacuna Fuenzalida-Palacios; pero sobre esto voy a entrar más en detalles el viernes.

DR. WIKTOR — Con respecto a lo que decía el Dr. Fuenzalida sobre la respuesta antigénica, en nuestro laboratorio el Dr. Kuber está preparando anticuerpos contra cepas específicas de virus rábico. Desarrolló una técnica para la preparación de suero antirrábico en conejos usando virus purificado como antígeno. Con cuatro inoculaciones de este material purificado, a intervalos semanales, obtuvo suero con títulos de 1:60.000 o más. El Dr. Kuber calcula que la razón entre la proteína viral y no viral es de 10^{-9} . En nuestras preparaciones de cultivo de tejido, hemos bajado esta relación al mínimo; de 1 billón pasamos a alrededor de 1:1, pero yo no sé si esto es exactamente verdadero.

Voy a responder ahora a una pregunta que me ha formulado el Dr. Atanasiu. Nosotros usamos la línea celular BHK, agregando DEAE-dextran en la infección inicial, y obtenemos nuestros títulos más altos de virus por un método combinado. Primero infectamos las células en presencia de DEAE-dextran y luego hacemos la segunda división por el método de células mezcladas. Esto significa que mezclamos células

no infectadas en presencia o ausencia de DEAE-dextran. Este es el material de partida antes de la purificación.

Yo no he encontrado ninguna línea celular con la cual el DEAE-dextran no haya aumentado la actividad de penetración. Con algunas líneas celulares hay mayor penetración que con otras, pero siempre hay por lo menos 4 veces más penetración en presencia de DEAE-dextran. La luz ultravioleta aumenta la producción de virus, con o sin DEAE-dextran, pero no aumenta la penetración del virus en las células.

DR. HABEL.— Quisiera saber si el DEAE-dextran aumenta el título del virus intracerebralmente, en ratones, porque si fuera así, sería un procedimiento práctico para aislar el virus cuando se encuentra en muy pequeñas cantidades.

DR. WIKTOR.— Lamentablemente nosotros no hemos podido aumentar el título del virus en ratones en presencia de DEAE-dextran. La experiencia nos dio resultados negativos, pero es posible que la repitamos.

DR. COCOZZA.— Me parece interesante comparar la infección de las células "in vitro" con lo que ocurre en el animal infectado. Si el grado metabólico de las células determina, de alguna manera, la velocidad de infección, ¿piensa Ud. que en la exposición las células pueden dañarse de tal forma que la infección se haga más lenta debido a un bajo grado metabólico, o aumentará éste debido a la reparación de los tejidos?

DR. WIKTOR.— Es difícil responder, pero yo creo que si Ud. daña de alguna forma las células la difusión del virus se hace más fácil y éste se libera de las células. El Dr. Bell ha demostrado que, en infecciones abortivas en ratones, el antígeno viral, y probablemente el mismo virus, pueden estar presentes en el cerebro mucho después de la inoculación, aún cuando los animales no han desarrollado síntomas de rabia. Si hay antígeno, lo más probable es que también haya virus, pero este virus infeccioso está bloqueado en unas pocas células y no puede propagarse. En el caso de las células diploideas humanas, en oposición a otros tipos de células, el virus no se propaga de célula a célula y, después de un tiempo, habrá en el cultivo la misma cantidad de células infectadas que al principio. A veces se puede provocar la propagación del virus a otras células, dividiendo el cultivo. En los cultivos de riñón de hamster, el virus, una vez formado, se libera e infecta nuevas células.

DR. HABEL.— Yo mencioné antes la diferencia entre lo que sucede en los sistemas de cultivo de tejido y la situación "in vivo" en el período de latencia. Hace algunos años realicé algunas experiencias inoculando ratones por vía intracerebral con aproximadamente 10^3

dosis infectantes. Se cosecharon los cerebros a intervalos variables después de la inoculación, y las células fueron rotas de tal forma que pude separar los microsomas, mitocondria, núcleo, etc., los cuales fueron titulados. Por este método pudimos demostrar un aumento de virus infectante, a menudo por encima del inóculo original, ya a las 12 horas. A las 24 horas era muy alto, de manera que puede suceder "in vivo" exactamente la misma cosa que mencionó el Dr. Wiktor.

Ud. dijo que, usando células diploideas puede obtener propagación a nuevas células colocándolas juntas en un subcultivo. ¿Afectan los anticuerpos de alguna forma la eficacia de este procedimiento? Hemos hablado en el pasado, sin ninguna evidencia, sobre el uso y los efectos del antisuero. ¿El virus tiene que salir fuera de la primera célula para dirigirse progresivamente al sistema nervioso central? En ese caso, teóricamente tendría que estar disponible para la neutralización con anticuerpos específicos, y sabemos que si administramos a los animales anticuerpos unas pocas horas después que el virus ha sido inoculado periféricamente todo lo que podemos es hacer más lento el período de incubación: el animal nunca va a estar completamente protegido contra la rabia. Yo me pregunto si es posible o no que aún "in vivo" pueda conseguirse la transferencia de célula a célula del material infeccioso sin que el virus salga de la célula y se encuentre con los anticuerpos. Sabemos que esto sucede con herpes y vaccinia.

DR. WIKTOR. — A veces, en las células diploideas, aún en presencia de anticuerpos antirrábicos hay transferencia de célula a célula. Pero como nosotros hemos observado los focos infecciosos con inmunofluorescencia es difícil determinar si se trató de transferencia de célula a célula o de división de las células infectadas.

DR. FERNANDES — Otro comentario que podemos hacer con respecto a la propagación del virus "in vivo" es que puede estar asociada con la división o proceso mitótico de las células. Se ha demostrado que las células nerviosas tienen un metabolismo muy activo y esto puede jugar un papel importante en la penetración del virus.

DR. BARBUTO — Quisiera preguntar al Dr. Wiktor si ya que pensó que la penetración del virus en la célula podría ser un tipo de enfermedad autoinmune, estudió por métodos inmunobiológicos anticuerpos anti núcleo o anticuerpos anti membrana y qué factor del complemento o qué fracción del complemento considera que es activa en la lisis de la célula.

DR. WIKTOR — Hemos estudiado complemento de diferentes orígenes: conejo, cobayo y hamsters. Los 3 fueron igualmente activos. No hemos fraccionado el complemento para saber exactamente qué sucede con los diferentes componentes.

CAPITULO III

PATOGENESIS DE LA RABIA

HARALD N. JOHNSON *

La microscopía electrónica ha demostrado que el virus de la rabia es similar al VSV; también presenta varias características de los mixovirus. Las características generales de los mixovirus son: sensibilidad al éter, cuerpos de inclusión intracitoplásmicos, tendencia a preferir los órganos secretores de mucus y a producir una hemaglutinina. Ya Uds. oyeron antes que el virus rábico produce una hemaglutinina.

El virus rábico puede producir varios tipos de infección: a) En la infección más simple, tres horas después de la inoculación de virus rábico en un animal, se observa una fase negativa; el virus lógicamente está en el huésped y no puede ser recobrado, pero no se multiplica; b) Hay otro tipo de infección, en la cual el virus se fija y se multiplica, pero no puede completar el ciclo de maduración: llega hasta cierta etapa, pero no se libera de la célula infectada; c) También ocurre que el virus se fija a la célula y completa el ciclo de maduración, se multiplica localmente, pero no hay invasión sistémica; d) Aún puede suceder que, en otra forma de infección, el virus se fije, complete su ciclo en el lugar de entrada y luego haya invasión sistémica, pero sin síntomas clínicos de enfermedad. El animal sigue sano; e) Finalmente tenemos el caso en que el virus penetra, invade infectando el sistema nervioso central, y produce enfermedad y muerte. Este es el tipo de infección rábica más comúnmente observado en caninos; el virus infecta, permanece localizado por un período de incubación variable, pero generalmente largo, luego el animal se enferma y transmite el virus por mordedura. La vía de entrada y salida del virus varía, indudablemente, según las diferentes especies.

Piensó que las grandes epidemias de rabia en murciélagos insectívoros de América del Norte constituyen un ciclo aberrante, aunque sumamente interesante.

En California se envían muchos animales pequeños al Departamento de Salud del Estado para diagnóstico de peste, rabia o una cantidad de otras infecciones naturales. Este material constituye una de

* Arthropod-borne Virus Studies, Rockefeller Foundation, Berkeley, California, Estados Unidos.

las fuentes más valiosas para los trabajos de investigación de rabia y otros virus selváticos. Si hiciéramos, por ejemplo, una encuesta entre todos Uds. buscando un virus muy común del hombre, el virus del herpes labial —*Herpes hominis*—, probablemente no encontraríamos ni una sola cepa. Pero cuando uno encuentra una persona con lesiones activas de herpes labial, o que muere de encefalitis herpética, puede aislarse el virus. En California tenemos, cada año, uno o dos casos fatales de encefalitis herpética.

De la misma manera, si un animal se enferma naturalmente, o muere, existe la oportunidad de encontrar un agente infeccioso. Por el contrario, puede uno salir y capturar un centenar de la misma especie, vivos y sanos, donde probablemente no se podrá encontrar nada. Cuando uno busca un virus polio, o ECHO, o un enterovirus, ¿en qué grupo de edad lo encontrará? Hemos llegado a la conclusión de que lo mejor es buscar en una familia compuesta por los padres, un niño de alrededor de un año de edad, y uno o dos parientes. Tomando 5 familias de este tipo en una ciudad, pueden aislarse muchos de los virus activos en la comunidad.

Lo mismo sucede en el mundo animal. Si Uds. tienen roedores cuyo promedio de vida es de 55 días y quieren aislar un virus, estudien a los animales jóvenes. ¿A qué edad los caballos sufren de encefalitis? Generalmente entre 1 y 2 años. Lo mismo la rabia canina: es más común en animales jóvenes.

Los ejemplares de murciélagos sometidos al Departamento de Salud Pública del Estado de California son una buena fuente para el estudio de los virus. Cuando el murciélago llega se le extrae el cerebro y se lo examina por la prueba de anticuerpos fluorescentes. Si el animal tiene rabia, se sigue un tipo de procedimiento: se extraen ciertos órganos, que yo llamo órganos "blanco" o de elección para el virus rábico, porque lo que yo busco es averiguar cómo el virus se multiplica en el huésped y cómo va a ser eliminado. Se han estudiado 35 murciélagos infectados naturalmente con rabia; se han extraído, asépticamente, varios órganos y se han lavado en salina estéril para eliminar la sangre. Independientemente, los órganos se maceran, se suspenden en diluyente, y se investiga la presencia de virus rábico.

Cuando los ejemplares recibidos resultan negativos para rabia, se prepara un "pool" de órganos para buscar otros virus, por ejemplo arbovirus. Se extraen las glándulas salivales, pulmones y riñones. Se eligen estos órganos, porque son los considerados órganos "blanco" o de elección para los arbovirus.

Los tejidos recogidos se lavan, se mezclan para formar un "pool" y se inoculan en ratones lactantes porque son muy susceptibles al virus rábico y a los arbovirus. Algunas cepas de virus rábico son más patógenas para los ratones jóvenes que para los adultos.

Durante los primeros trabajos sobre rabia en Alabama, estudiamos varios órganos de perros rabiosos para tratar de descubrir cómo

el virus entra y sale del huésped. Encontramos que las glándulas salivales, las lacrimales, el páncreas y los riñones son buenas fuentes de virus. El virus se encuentra también presente en las glándulas suprarrenales. El hígado y el bazo dieron resultados negativos, así como los testículos y otros órganos.

Esta experiencia con perros sirvió, al trabajar con murciélagos, para seleccionar ciertos órganos excretorios. Los murciélagos que yo recibí ya habían sido analizados en el Departamento de Salud de California, de manera que el cerebro ya había sido extraído. Por consiguiente, extraje la grasa café, la glándula salival submaxilar, el músculo pectoral, los pulmones y los riñones.

Del total de 35 murciélagos naturalmente infectados, 19 de 31 (61%) glándulas submaxilares fueron positivas para rabia. Doce (46%) muestras de tejido muscular de entre 26 dieron resultado positivo. El músculo pectoral fue positivo en 10 de 25 murciélagos (40%). Después de encontrar a un murciélago vivo en el suelo, incapaz de volar, sospeché que tal vez el músculo pectoral estaba directamente afectado por el virus; el músculo contenía virus rábico. Después he recobrado virus en el músculo pectoral de un zorrino y de un caso humano. Tales estudios sugieren que el virus rábico tiene marcado tropismo por el tejido muscular.

De 29 murciélagos positivos, el tejido renal contenía virus solamente en 3 casos. Otros investigadores han encontrado más o menos la misma proporción. De 14 murciélagos positivos, solamente en 2 ocasiones encontramos virus en la grasa café. Aparentemente la cantidad de virus presente era muy pequeña, porque en un caso sólo 1 de 8 ratones desarrolló rabia, y en el otro, sólo 2 de 6 ratones. A partir de estos aislamientos, hemos sido sumamente cuidadosos al examinar la grasa café. Todo tejido extraño es eliminado, y la grasa se enjuaga varias veces en salina para que no quede sangre o líquido. No hemos podido aislar virus de la grasa café de los últimos 11 murciélagos examinados. En 3 casos en que las glándulas salivales de murciélagos fueron negativas, pudimos aislar virus de los pulmones. En una ocasión se aisló virus rábico del intestino de un zorrino naturalmente infectado. Se lavaron los intestinos cuidadosamente y se analizaron las heces y el tejido intestinal separadamente. El tejido intestinal resultó positivo y las heces negativas. No hemos encontrado virus rábico en el tejido intestinal de 9 murciélagos. Todos nuestros aislamientos de virus rábico son confirmados por la prueba de anticuerpos fluorescentes.

Es muy interesante la cuestión sobre las vías de entrada y salida del virus. Yo sospecho que en el murciélago el virus rábico no penetra por mordedura, sino que la infección es de tipo respiratorio.

El aislamiento de virus rábico del tejido muscular tiene significación particular. El hecho de que el virus infecta los músculos es probablemente la razón por la cual la prueba de confrontación intramuscular es muy eficaz. Las confrontaciones intradérmicas y sub-

cutáneas con virus rábico de calle dan como resultado menos del 5% de infección, mientras que la inoculación intramuscular da un porcentaje de infección superior a 50%.

Al inocularse virus rábico calle intramuscularmente, algunos de los animales desarrollan resistencia a la rabia y no presentan enfermedad clínica. Esta es una evidencia de que el virus se multiplica localmente. Puede demostrarse de dos formas: los ratones se inoculan intramuscularmente con alguna cepa de virus rábico calle; al confrontarlos un mes más tarde por inoculación intracerebral se los encontrará inmunes a la rabia. Si se inoculan hamsters por vía intramuscular, al desarrollar parálisis y examinarse el músculo de la zona de inoculación se encontrará generalmente que contiene virus activo.

En una mordedura en el tejido muscular el virus rábico puede directamente propagarse al sistema nervioso central. El virus puede localizarse y persistir durante largo tiempo en el tejido muscular. Esto explicaría cómo el virus puede permanecer latente y luego, mucho más tarde, bajo ciertos estímulos, invadir el sistema nervioso central.

La susceptibilidad muscular está también relacionada con la vacunación antirrábica. La vacuna Flury de bajo pasaje es más eficaz cuando se la aplica por vía intramuscular que por vía subcutánea. Por ejemplo, si se vacunan ratones con 0,03 ml. de virus Flury en el músculo del muslo y se los confronta 30 días más tarde por inoculación intracerebral con un virus calle, habrá casi 100% de resistencia. En las mismas condiciones, pero vacunando por vía subcutánea, no se obtendrá inmunidad alguna.

Yo mencioné la eliminación de virus por los riñones; pienso que no debe tener mayor importancia en la epidemiología de la rabia. Las vías respiratorias, en cambio, son muy importantes, tanto para la entrada como para la salida del virus, sobre todo en la transmisión de la rabia entre murciélagos *Tadarida*.

Los parásitos varían su patogenicidad cuando se los estudia en diferentes huéspedes. Para la rabia debemos considerar la posibilidad de distintas formas de infección en diferentes especies. En el huésped natural probablemente hace poco daño, pero cuando el virus invade murciélagos de cola libre, que viven en cuevas en estrecho contacto —alrededor de 400 murciélagos por pie cuadrado— la vía respiratoria es la que adquiere mayor importancia. Es muy interesante el hecho de que el tejido pulmonar de los murciélagos *Tadarida* se encuentra infectado mucho más a menudo que el de los perros.

Hemos examinado más de 300 murciélagos cuyo cerebro no contenía virus rábico, y todos sus tejidos eran negativos. No hemos encontrado evidencia alguna de un estado de portador rábico entre los murciélagos insectívoros.

Al examinar murciélagos para la presencia de virus rábico hemos podido aislar otros virus. El virus Río Bravo produce una enfermedad semejante a la rabia cuando se lo inocula en ratones. Sin embargo, es un arbovirus del grupo B. Otro virus aislado de murcié-

lagos es el Kern Canyon. En fotografías tomadas con microscopio electrónico, este virus aparece idéntico a las partículas en forma de bala del virus rábico. El Dr. Bell en Hamilton, Montana, ha aislado de murciélago un arbovirus del grupo B llamado MM. En Trinidad se aisló un virus llamado Tacaribe, y otro de murciélagos frugívoros. Les advierto que pueden existir en los murciélagos otros virus, y que éstos pueden no producir en ratones una enfermedad similar a la rabia. Los murciélagos son animales interesantes desde el punto de vista ecológico, y debemos tener en cuenta que pueden ser portadores de otros virus importantes para el hombre. Por ejemplo, se ha aislado virus de encefalitis venezolana de murciélagos en Colombia, y yo creo que el virus de la fiebre amarilla puede ser propagado por murciélagos. En Africa, miles de murciélagos han sido examinados para la presencia de virus rábico, todos ellos con resultado negativo. Sin embargo, se han aislado de esos animales varios virus del grupo B.

Comentarios

DR. RENATO DA SILVA — Con relación al tema tan brillantemente presentado por el Dr. Johnson, me gustaría comentar algunos resultados de trabajos realizados en Brasil. Hemos aislado el virus de la rabia de riñón, de corazón y de cerebro de bovinos infectados naturalmente, así como de murciélagos hematófagos —*Desmodus rotundus*— y de otras especies. Hemos obtenido virus de diferentes tejidos de murciélagos.

Tenemos además en Brasil un trabajo muy largo sobre cepas de virus de ternero y de cerebro de ratón, aisladas de diferentes tejidos; nuestra experiencia nos indica que la producción de corpúsculos de Negri es abundante en el primer pasaje con todas las cepas de virus obtenidas de diferentes tejidos, ya se trate de murciélagos, de bovinos, de gatos o de perros.

Con respecto a la patogenicidad para otros animales del virus aislado de murciélagos, hemos verificado que algunas de estas cepas, al ser inoculadas en conejos y cobayos, se mostraban patógenas. En el conejo, el tiempo de incubación no fue muy largo —cerca de 18 días— pero un animal sufrió la enfermedad por unos 8 días. En cambio, al inocular perros susceptibles con concentraciones bastante altas del virus, por vía intramuscular, los animales permanecieron normales por cerca de 90 días. Algunas cepas aisladas de murciélagos crecen bien en embrión de pollo cuando se las obtiene de cerebro de ratón y se las inocula por vía del saco vitelino.

Otro punto interesante es la presencia de virus rábico en los gatos domésticos; hemos obtenido resultados que revelan la presencia del virus principalmente en el cerebro, en los pulmones, en la lengua, en la vejiga y en la glándula submaxilar. Los títulos más altos se encontraron en la glándula submaxilar y en la lengua.

DR. JOHNSON — El Dr. Da Silva mencionó cepas de virus Negri-positivas y yo quisiera agregar que hay mucha diferencia entre las cepas de virus de diferentes especies de murciélagos. Las cepas de los murciélagos *Tadarida* son reconocidas generalmente en el laboratorio porque tienen un período de incubación muy corto en los ratones y producen abundante cantidad de corpúsculos de Negri, tanto en los murciélagos como en los ratones. El virus de otros murciélagos que viven libres tiene un período de incubación largo en los ratones —21 días en comparación con 5 ó 6 días de las cepas de *Tadarida*— y raramente producen corpúsculos de Negri detectables.

El aislamiento de virus de la lengua me ha resultado muy interesante. La lengua tiene muchas glándulas y está formada por tejido muscular, por lo cual este hallazgo no es sorprendente.

DR. FERNANDES — Me gustaría comentar sobre la susceptibilidad del tejido muscular al virus de la rabia. Nosotros hemos realizado algunos trabajos con cultivos de células de músculos y encontramos que las fibras musculares son tan susceptibles al virus como las neuronas. Las células musculares pueden cultivarse muy bien y el virus las invade fácilmente, lo cual puede ser observado por medio de la inmunofluorescencia.

DR. JOHNSON — Me complace oír sobre el trabajo del Dr. Fernandes con células musculares. Nosotros tratamos de cultivar virus rábico en tejido de músculos de piel humanos y encontramos que el virus se multiplica y permanece viable durante largo tiempo.

DR. SIKES — Nosotros hemos realizado hallazgos similares a los informados por los Dres. Johnson y Da Silva en mamíferos terrestres. Yo me pregunto si, a pesar del hallazgo de virus en varios órganos, significa esto que los animales hospedan el virus mientras están vivos y si la presencia de virus en tales tejidos explica los largos períodos de incubación observados a veces. El hallazgo de virus en tales órganos no significa necesariamente que el virus permanece latente durante toda la vida del animal.

DR. FORREST — Nosotros hemos hecho algunas experiencias, sobre todo tratando de demostrar la presencia de virus en órganos, con virus procedente de calle y virus aislado de cerebro de murciélago. Con el virus calle, aislamos virus de la glándula salival de ratón, pero no así de corazón, ni de pulmón, ni de hígado, ni de bazo, ni de riñón. Lo mismo es aplicable a murciélagos, donde sólo hemos aislado virus de las glándulas salivales, glándula interescapular y cerebro. En una partida de 25 murciélagos *Desmodus rotundus* que procedían de Misiones encontramos 11 positivos; en 6 de ellos aislamos virus solamente de la grasa interescapular y del cerebro, los 5 restantes fueron positivos solamente para el cerebro. También hemos podido comprobar gran resistencia o supervivencia del virus después de una prolongada conservación en glicerina al 50 %; después de 2

años de permanencia en congeladora a -21°C hemos obtenido cuadro típico de rabia a los 90 días de inyectar ratones por vía intracerebral.

DR. WIKTOR — Me gustaría agregar unas pocas observaciones en relación con la patogénesis del virus rábico en ratones. Hemos estado estudiando, hace unos pocos meses, la conducta de ratones inoculados intracerebralmente con virus HEP y luego confrontados, a diferentes intervalos, por inoculación intraplantar del virus CVS. Buscábamos el momento en que los animales inoculados con virus HEP comenzaban a mostrarse resistentes a la confrontación, y observamos que 4 días después de la inoculación intracerebral de virus HEP todos los ratones resistieron una confrontación intraplantar fuerte. Si se confrontan los animales 2 días después de la inoculación, la mitad muere y otros muestran parálisis. Aún tenemos en observación alrededor de una docena de ratones que fueron confrontados hace 9 meses; sobrevivieron pero mostrando parálisis en los miembros posteriores. Esta es una de las primeras observaciones que tenemos sobre parálisis local en el lugar de la inoculación provocada por el virus rábico. Estamos investigando el mecanismo de esta parálisis local y también controlando la progresión del virus HEP del lugar de inoculación a la médula espinal y a los nervios periféricos. Hemos notado que, al estar presente el HEP en las células de la médula espinal, su presencia detiene al virus CVS y los animales se hacen resistentes a la confrontación.

DR. ATANASIU. — Me parece que no se ha insistido suficientemente sobre la vía aérea de transmisión de la rabia. Los trabajos realizados por Constantine son muy importantes y, no hace mucho tiempo, hemos repetido estas experiencias con cepas de laboratorio. Por el procedimiento de la formación de aerosoles hemos obtenido la enfermedad en 158 de 308 animales, con multiplicación de virus en los pulmones. Yo creo que el pulmón es un órgano donde el virus se multiplica por primera vez, antes de llegar al cerebro; estos animales enfermos tenían virus libre en la tráquea. Luego de estar en contacto con los aerosoles, los animales fueron puestos con las madres, previa esterilización de la parte periférica con luz ultravioleta. Algunos de ellos transmitieron la rabia a las madres, yo creo que también por vía aérea.

Quisiera saber la opinión del Dr. Johnson sobre la multiplicación o no multiplicación del virus cuando se cortan los nervios. Ud. sabe que cuando se cortan los nervios y se inocula una cantidad muy grande de virus intramuscularmente, no hay multiplicación local.

DR. JOHNSON. — Durante esta discusión han surgido varias cuestiones que voy a tratar de comentar. Un hecho que me ha preocupado con respecto al trabajo de laboratorio con rabia es el uso de cepas fijas para estudios experimentales. En 1938, cuando nosotros comenzamos a trabajar con rabia, nos impresionó la diferencia entre

las cepas calle y fijas del virus. Tratamos de aislar virus fijo de las glándulas salivales y nunca tuvimos éxito. Entonces tratamos de descubrir cuánto tarda una cepa calle en perder su habilidad para invadir las glándulas salivales por pasajes cerebrales. Encontramos que ello ocurre después de unos pocos pasajes.

Hay diferencias en la virulencia del virus rábico de algunas especies de huéspedes. Por ejemplo, a veces el virus de las glándulas salivales de un murciélago rabioso o de un zorro invade las glándulas salivales en un 80 % de los ratones; otras veces sólo en un 10 %. Si Uds. quieren estudiar la patogénesis del virus rábico deben usar siempre una cepa que no haya sido pasada por cerebro. Cualquier pasaje del virus en un tejido extraño cambiará sus propiedades. Lo mejor es tomar el virus tal como existe en la naturaleza.

El cortar los nervios es algo que yo nunca he realizado. Sin embargo, cuando se corta un nervio cambia la fisiología del tejido o del órgano al que servía y puede no ser ya entonces adecuado para la multiplicación del virus. El virus rábico prefiere órganos con un metabolismo alto, tales como las glándulas salivales, el páncreas, etc.

Finalmente, al estudiar la patogénesis de la rabia en la naturaleza siempre se selecciona una cepa de virus tal cual ocurre en la naturaleza, no una cepa fija o una cepa aislada de tejidos en los cuales generalmente no se lo encuentra.

Hay una posibilidad de transmisión oral del virus. Si se inoculan ratones lactantes con virus rábico y la hembra devora a su cría, puede desarrollar rabia. Esto no es de gran importancia para la epidemiología de la rabia, sin embargo.

DR. RENATO DA SILVA. — Nosotros tenemos una experiencia que demuestra muy bien la presencia de virus en la sangre de gatos naturalmente infectados. Extrajimos sangre de un gato doméstico por punción cardíaca e inoculamos en conejos; alrededor de 58 días después de la inoculación intramuscular los conejos mostraron parálisis y pudimos aislar el virus de la médula, del cerebro y del corazón. Este trabajo fue sugerido principalmente por las experiencias de Kopprowski que, inoculando embrión de pollo, obtuvo virus de la sangre del embrión al 3º y 15º días de la inoculación; los trabajos de Habel y Brueckner inoculando murciélagos de la especie *Myotis lucifugus* por vía intraperitoneal y luego aislando virus de la sangre de esos murciélagos al 3º y 4º días después de la inoculación; y los trabajos realizados por Parseco y Proença en Brasil, en el Instituto Oswaldo Cruz, que también pudieron aislar el virus de la sangre de conejos inoculados por diversas vías.

DR. HABEL. — Con respecto a la cuestión del aislamiento del virus rábico de diferentes órganos, y si el virus realmente se multiplica en esos órganos, creo que tenemos información adecuada sobre las glándulas salivales y el cerebro; no hay duda de que el virus se multiplica en estos órganos. Sobre los demás, nos faltan pruebas.

DR. JOHNSON. — La prueba de anticuerpos fluorescentes parece ser bastante específica. En nuestros estudios con murciélagos hemos controlado los tejidos positivos por ese método. Sin embargo, algunas veces en que hemos aislado virus de las glándulas salivales o de los músculos, la prueba de anticuerpos fluorescentes resultó negativa. A menudo no hay correlación entre la cantidad de virus presente en las glándulas salivales y los resultados de la prueba AF.

En síntesis, tenemos dificultades para ver el antígeno rábico en muchos órganos con la prueba de anticuerpos fluorescentes, pero esto no significa que el virus no esté presente y multiplicándose.

DR. BAER. — Quiero referirme a dos puntos mencionados por el Dr. Johnson. En 2 años que trabajo en el laboratorio de rabia de Las Cruces, Nueva México, observando y examinando quizá 800-1.000 murciélagos cola libre (*Tadarida*) encontramos una correlación muy estrecha entre los resultados de fluorescencia y de inoculación en ratones, sobre todo con tejido cerebral, pero también de otros órganos. Siempre existe, por supuesto, la posibilidad de que en un órgano dado —como glándulas salivales o grasa café— una impresión de una parte de la glándula no muestre fluorescencia, la cual se observa en un examen más minucioso. Creo que la correlación muy estrecha entre la prueba en ratones y la prueba de fluorescencia también se ha podido comprobar en otros laboratorios, no solamente con tejido cerebral, sino también con otros tejidos. Con respecto a los períodos de incubación en ratones inoculados con tejido cerebral y de glándulas salivales de *Tadarida*, observámos que fueron iguales, o casi iguales, siempre que los títulos fueran semejantes. Cuando los títulos fueron mayores, los períodos de incubación fueron más cortos.

DR. JOHNSON — No quiero dar la impresión de que la prueba AF sea inexacta. Nosotros no hemos tenido problema en aislar virus de murciélagos cuyo cerebro era positivo a la prueba AF. En algunos de los otros órganos tal vez la cantidad de virus es tan pequeña que no puede ser detectada por inmunofluorescencia. En un caso humano, cuyo diagnóstico fue parálisis vacunal, el laboratorio local informó que la muestra de cerebro era negativa a AF y el Departamento de Salud del Estado encontró sólo cantidades pequeñísimas de virus en el cerebro por el mismo método. Al inocular en ratones, sólo 1 de 8 desarrolló rabia. Este es el caso, a menudo, en los zorrinos, donde el título viral es bajo y la prueba AF puede resultar negativa.

El Dr. Spence, que trabaja en Trinidad con rabia de mangostas, opina que si se confía solamente en la prueba AF con esos animales, frecuentemente se perderá el virus. En general, si un laboratorio realiza adecuadamente la técnica AF no se perderán casos en murciélagos y perros.

DR. SIKES — Puede haber algunos tejidos que presenten problemas con la prueba AF; es decir, que en ellos pueda aislarse virus por ino-

culación animal habiendo dado resultados negativos o dudosos por inmunofluorescencia.

Quiero subrayar el hecho de que estamos usando 3 pruebas para la rabia: histoquímica, serológica y biológica, y no hay, por cierto, un 100% de correlación entre los resultados de las tres. Ha habido casos en que la AF era positiva y la inoculación negativa. Tejidos de animales positivos a rabia no matan a los ratones y el suero o los tejidos de los ratones inoculados neutralizan una dilución de 1:100 de virus fijo. Esto nos hace pensar que la prueba AF es segura.

DR. JOHNSON — Nosotros también hemos encontrado animales con AF positiva, de los cuales no hemos podido aislar virus. Parece haber algunas cepas de muy baja virulencia. Hemos aislado una de un zorrino en California; los ratones se enfermaron en 2 ó 3 semanas y luego se curaron. Al matar algunos ratones mientras estaban enfermos, la prueba AF daba resultados positivos. En un caso, inoculamos 100 ratones con material cerebral de un zorrino y solamente 3 de ellos murieron; esos fueron AF positivos. Luego se sacrificaron periódicamente los ratones restantes y pudimos encontrar animales AF positivos durante 6 meses después de la inoculación. Además, si se inoculan los ratones con virus HEP, éste puede recobrase del cerebro antes, pero no después, de un corto período de tiempo, aunque hay antígeno presente que puede ser demostrado por el método AF.

En la rabia natural, la prueba AF es el arma más importante para diagnóstico. A menudo es posible obtener un AF positivo aún cuando el animal haya muerto varios días antes.

DR. SIKES — Me gustaría aclarar un punto con respecto a la ocurrencia de viremia en la rabia. Dr. Da Silva, en el caso del gato en el cual aislaron virus de la sangre, ¿cuál fue la dosis de inóculo, cuánto tiempo después de la inoculación aislaron el virus y desarrolló rabia el animal pocos días después del aislamiento del virus de la sangre?

DR. RENATO DA SILVA — Este trabajo fue realizado con un gato naturalmente infectado, de manera que nosotros no hicimos inoculación experimental. Cuando tomamos muestras de sangre del corazón ya presentaba, desde dos o tres días antes, síntomas característicos; luego inoculamos la sangre en conejo.

DR. GURY DOHMEN — Existe una vieja controversia sobre si en la rabia hay viremia o no. Ha sido encontrada algunas veces y negada la mayor parte de ellas. Hay también quien postula la creencia de que la viremia es transitoria. Yo quisiera preguntar a los investigadores, especialmente a los Dres. Da Silva y Johnson, en qué momento de la enfermedad natural se ha encontrado el virus y si, en el mismo animal, se ha hecho otra toma de muestra para demostrar la persistencia o desaparición del virus.

DR. JOHNSON — En nuestros primeros trabajos con rabia canina nosotros investigamos la posibilidad de una viremia. El virus puede

ser demostrado en la sangre por un periodo de tiempo muy corto posterior a la inoculación experimental. Después no hemos podido aislar virus de la sangre, ni aún durante la enfermedad clínica. Hay una posibilidad de que el virus esté presente en los componentes celulares de la sangre y, en ese caso, podría ser demostrado tal vez por la técnica AF. Por cierto sería interesante si se pudiera demostrar la presencia de virus en los glóbulos blancos de la sangre. Con respecto a la viremia, y a la posible transmisión por ectoparásitos, los trabajos han dado todos resultados negativos.

DR. HABEL — Una cantidad de investigadores han demostrado que los animales pueden infectarse por administración endovenosa de grandes cantidades de virus. Además, el virus puede ser aislado de la sangre dentro de un periodo corto después de la inoculación. Cuando un animal desarrolla rabia, con presencia de una gran cantidad de virus, puede haber alguna contaminación de la sangre y otros tejidos, pudiendo aislarse entonces el virus de ellos. Pero esta es una situación de "inundación" mecánica y no parece estar relacionada de ninguna manera con la patogénesis o la propagación del virus rábico.

LA PATOGENESIS DE LA RABIA EN MURCIÉLAGOS

JORGE M. BAER *

Entre los años 1906 y 1908 apareció un brote de una enfermedad paralítica en ganado vacuno, caballos y asnos del Estado de Santa Catarina en el sur de Brasil. Al principio se pensó que fuera peste bovina¹, o tripanosomiasis, ya que la enfermedad se presentó también en equinos. Se le llamó mal de caderas, como consecuencia de la incoordinación que presentaban los animales afectados². Debido a la presencia de prurito en algunos animales, se sospechó de pseudorabia. La mortalidad llegaba hasta el 30 % en hatos de vacas y el 15 % en los equinos.

Carini, de São Paulo, investigó la enfermedad a partir de 1911, y encontró corpúsculos de Negri en tejido cerebral de bovinos muertos³. Pudo reproducir la enfermedad en conejos con el material bovino, pero no encontró corpúsculos de Negri en los conejos. Carini notó que el síntoma más común era parálisis, y que casi no había canes rabiosos en los alrededores de los bovinos y equinos afectados. Por ello pensó que la enfermedad era transmitida por algún animal silvestre; le llamó la atención que algunos murciélagos fueron observados volando en pleno día e inclusive, que éstos habían mordido al ganado que más tarde moría, pero no pudo obtener muestras de murciélagos. La enfermedad se

* Consultor en Rabia, Oficina Sanitaria Panamericana, Zona II. Adscrito al Centro Nacional de Investigaciones Pecuarias, Km. 15 ½ Carr. México - Toluca, Palo Alto, D. F.

extendió y dos veterinarios alemanes, Haupt y Rehaag fueron contratados para investigar más a fondo la epizootia. Ellos informaron ³ que se trataba de rabia, y que el cuadro clínico definitivamente era paralítico. Durante sus investigaciones, un becerro de 8 días de edad fue mordido por un murciélago identificado como *Phyllostoma superciliatum*, murciélago frugívoro. A los 27 días, el becerro murió de rabia paralítica.

Dos años más tarde, en 1914, le fue posible a Rehaag aislar el virus rábico de la médula de un murciélago *Phyllostoma*.

Sorprendentemente, no fue sino hasta diez años más tarde que el murciélago hematófago (vampiro) *Desmodus rotundus*, fue identificado como el transmisor principal de la rabia paralítica bovina. Torres y Queiroz Lima, en Brasil, comprobaron que el vampiro podía ser infectado después de inoculado con el virus de bovino, y que el animal infectado podía transmitir la enfermedad a otros animales ⁴⁻⁷.

En el informe de Queiroz Lima se describe un experimento en el que se trata de demostrar que los vampiros inoculados podían infectar vampiros sanos. Dos vampiros inoculados por vía intramuscular el 21 de febrero de 1935, murieron el 9 y 14 de marzo, es decir, con períodos de incubación de 16 y 21 días, respectivamente. No enfermaron en este experimento los vampiros sanos puestos con los vampiros enfermos. En un segundo experimento dos vampiros inoculados tuvieron períodos de incubación de 26 y 27 días, mostrando, como los otros dos, agresividad y parálisis características. Un vampiro de los seis puestos junto con los dos animales inoculados, enfermó dos semanas después de haber sido mordido por los otros vampiros.

Este mismo vampiro pudo transmitir el mal a bovinos por mordeduras durante un período de 110 días (casi 4 meses); algunos de los murciélagos estudiados no mostraron síntoma alguno durante este tiempo ⁸. Más tarde ⁴, Queiroz Lima aisló el virus rábico de dos vampiros naturalmente infectados, recogidos en la zona endémica.

En Paraguay ⁹, Trinidad ¹³, Argentina ¹⁰, Guayana Británica ¹¹, Venezuela ¹², y México ¹⁸⁻¹⁹ pasó casi lo mismo, con la notable situación de Trinidad donde hubo varias muertes humanas ¹³⁻¹⁵.

Pawan, de Trinidad, después de haberse presentado un gran brote en ganado vacuno, examinó 209 murciélagos sin poder aislar virus ¹⁶. Entre ellos había 52 *Artibeus*, murciélagos frugívoros. Empero, en 1931 pudo identificar corpúsculos de Negri en otro murciélago frugívoro que encontró volando en pleno día, e inyectando tejido cerebral de este animal, produjo la enfermedad en un conejo ¹⁵. En los años siguientes pudo aislar el virus de casi el 4% de los animales examinados, siendo en su gran mayoría vampiros.

Pawan empezó a trabajar con vampiros ¹⁵⁻¹⁶; primero mostró que la sintomatología varía y que se pueden observar animales infectados con síntomas furiosos, paralíticos, o aún asintomáticos. Además, algunos se recuperaron de la etapa furiosa de la enfermedad y siguieron transmitiendo el virus durante varios meses. Esto se observó tanto en

vampiros inoculados artificialmente como en animales naturalmente infectados. En el Cuadro Ia, se puede observar que, de seis vampiros inoculados con virus rábico de calle (de origen humano), cinco murieron de rabia; uno murió de causas ajenas, el primer día después de la inoculación. Los cinco vampiros restantes tuvieron períodos de incubación entre 11 y 165 días. Uno de los animales mostró parálisis junto con mucha furia; los otros cuatro murieron repentinamente. El vampiro N° 12 infectó dos becerros en los días 37° y 54° después de la inoculación. Se pudo aislar el virus de las glándulas salivales de los vampiros N° 5 y 11, 44 y 85 días, respectivamente, después que infectaron conejos. Hay que hacer mención especial al hecho de que el diagnóstico fue hecho sólo por el hallazgo de corpúsculos de Negri. Tampoco se tituló el virus de exposición.

En el Cuadro Ib, los períodos de incubación variaron de 9 a 66 días, quizá porque el virus de exposición tuvo mayor título. De los 6 vampiros, dos murieron sin síntomas, dos mostraron sólo parálisis, y los otros dos parálisis con agresividad.

En el experimento del Cuadro Ic, cuatro vampiros fueron inoculados con virus de origen de vampiro. Uno de los animales se infectó, enfermándose al 14° día; sin embargo, este animal se recuperó y siguió normal. Pawan no trató de aislar virus de ese animal después del día indicado.

Pawan dividió la sintomatología de la rabia en vampiros en seis clasificaciones:

1. La rabia furiosa clásica, seguida por parálisis y muerte.
2. La rabia furiosa, seguida por muerte, sin parálisis previa.
3. La rabia furiosa, después de la cual se recupera el murciélago.
4. La rabia paralítica clásica, seguida por muerte.
5. Muerte repentina, sin síntomas anteriores.
6. La forma "latente" de infección, en la cual el murciélago sigue vivo y normal.

Luego experimentó con *Artibeus planirostris*, un murciélago frugívoro, y encontró básicamente los mismos resultados. Los períodos de incubación en estos animales variaron de 9 días (cuando se usó una cepa humana) a 184 días (cuando se usó una cepa de vampiro). En algunos casos se encontró el mismo fenómeno que en los vampiros, la recuperación después de la enfermedad¹⁷.

El primer murciélago insectívoro rabioso aparentemente fue encontrado por Pawan en 1932¹⁵; era un *Diclidurus*. En Estados Unidos se diagnosticó por primera vez en Florida en 1953²⁰, y desde entonces se ha reportado rabia en murciélagos en 47 de los 48 Estados contiguos, y en 26 de las 40 especies conocidas²¹. También se han encontrado murciélagos insectívoros rabiosos en el Canadá²²⁻²³, Yugoslavia²⁴, y Turquía²⁴. En años recientes se ha investigado la patogénesis de la rabia en los murciélagos insectívoros inoculados con cepas de virus aislado de perros²⁵⁻²⁹, zorros²⁶, lobos³⁰, y otros murciélagos insectívo-

ros³⁰⁻³³. Estos estudios pusieron en evidencia que los murciélagos eran susceptibles a una gran variedad de cepas de virus "calle" pero relativamente resistentes a la inoculación de virus aislado de otros murciélagos; no se notó un estado de portador normal.

Con el propósito de averiguar la susceptibilidad del murciélago de cola libre (*Tadarida brasiliensis mexicana*) a la inoculación de virus rábico de las glándulas salivales de murciélagos de la misma especie, hicimos el experimento descrito a continuación³⁵. Usamos doce grupos de 7 murciélagos cada uno, escogidos al azar; todos sus sueros eran negativos a la prueba de seroneutralización al iniciarse el estudio. Para esta prueba se sangraron los murciélagos del ojo³⁴. Se determinó la ausencia de virus en la saliva por medio de inoculación en ratones. Las vías de inoculación fueron intracerebral, intramuscular, subcutánea e intranasal.

La mayor mortalidad se notó en los murciélagos inoculados por vía intracerebral (Cuadro II). Aún en el grupo inoculado con 20 DL₅₀ de ratón, murieron 5 de 6 animales. Los períodos de incubación variaron marcadamente en este grupo, de 14 a 117 días, de acuerdo a la dosis. La mayoría de los animales presentaron síntomas de violencia y agresividad. El período de morbilidad varió de 4 a 87 días; en este último caso el animal estuvo paralizado durante todo el período de la enfermedad.

La mortalidad en los grupos inoculados por vía intramuscular, subcutánea, o intranasal fue bastante menor (Cuadro II), y casi no se observó agresividad. Con respecto a la eliminación de virus en la saliva (Cuadro III), en los grupos inoculados por vía intracerebral se aisló virus de la saliva de 15 de los 20 animales enfermos, hasta 12 días antes de la aparición de síntomas. Sorprendentemente, no pudimos aislar virus de las glándulas salivales de 3 animales que habían eliminado virus anteriormente. En los otros grupos (Cuadro III) 3 de los 8 animales enfermos eliminaban virus en la saliva, 2 de ellos desde el mismo día en que presentaron síntomas. También se titularon varios tejidos de los animales que murieron y de los que sobrevivieron hasta los 6 meses, fecha en que se sacrificaron los sobrevivientes. Hubo una correlación estrecha entre los períodos de incubación y los títulos en las glándulas salivales de estos animales (Cuadro IV). Debe hacerse hincapié en que uno de los animales sacrificados el día 181, en un estado físico normal, tenía los títulos más altos en el cerebro, grasa café, glándulas salivales submaxilares, glándulas salivales parótidas, riñón y pulmón. Los títulos de seroneutralización encontrados (Cuadro V) correspondían, en gran parte, a la cantidad de virus inoculado, con la excepción de los animales en los grupos inoculados por vía intranasal.

El murciélago aparentemente reacciona como muchos otros animales silvestres con respecto a los períodos variables de incubación del virus. Existe también una correlación estrecha entre la dosis de exposición y la eliminación de virus de la saliva³⁶. Sin embargo, el por-

centaje de animales que presentan la forma paralítica o mueren repentinamente es alto, y hay menos animales de los inoculados periféricamente (vía intramuscular o subcutánea) que presentan la forma furiosa de la enfermedad.

Si efectivamente existe un portador normal de la rabia entre los quirópteros (hecho que queda sin comprobación definitiva), eso cambiaría toda la epidemiología con respecto a esa especie por lo menos. Un animal enfermo podría mantener la infección en una zona durante su vida, similar a lo que sucede con los portadores humanos de tifoidea.

El control de esta enfermedad en quirópteros hematófagos depende de poder encontrar una vacuna eficaz y duradera para proteger el ganado expuesto, y luego una manera de eliminar los vampiros sin afectar las poblaciones de murciélagos insectívoros que viven en contacto con ellos. El control de la enfermedad en los otros tipos de murciélagos, como el murciélago insectívoro, es más problemático, porque esos animales son benéficos y su tasa de infección es baja.

REFERENCIAS

- ¹ Metivier, H. V. M. Paralytic rabies in livestock. *J. comp. Path.*, 48: 245, 1935.
- ² Carini A. Sur une grande epizootie de rage. *Ann. Inst. Pasteur*, 25: 843, 1911. Citado por Entight, J. B. Bats, and their relation to rabies. *Ann. Rev. Microbiol.*, 10: 369, 1956.
- ³ Haupt, H., Rehaag, H. Durch Fledermause verbreitete Seuchenhafte Tollwut unter Viehbestanden in Santa Catherina (Sud-Brasilien). *Z. Infekt. Kr. Haustiere*, 22: 104, 1921.
- ⁴ Lima, E. de Queiroz. A transmissão da raiva bovina pelo morcego hematophago *Desmodus rotundus*. *Brasil-méd.*, 48: 38, 1934.
- ⁵ Torres, S., Lima, E. de Queiroz. A raiva e sua transmissão por morcegos hematofagos infectados naturalmente. *Rev. Dep. Nac. Prod. Animal*, R. de Janciro, 2: 1, 1935.
- ⁶ Torres, S., Lima, E. de Queiroz. A raiva e os morcegos hematofagos (*Desmodus rotundus murinus*). *Rev. Dep. Nac. Prod. Animal*, 2: 385, 1935.
- ⁷ Torres, S., Lima, E. de Queiroz. A raiva e os morcegos hematofagos: morcegos que resisten a infecção tornase portadores o eliminadores de virus. *Rev. Dep. Nac. Prod. Animal*, 3: 165, 1936.
- ⁸ Lima, E. de Queiroz, Salles, A. *J. do Commercio*, 10 Shro. 1933.
- ⁹ Rosenbusch, M. Sur une maladie des bovidés du Paraguay voisine de la rage paralytique. *Acad. Sci.* (Citado en: *Ann. Inst. Pasteur*, 47:649, 1930).
- ¹⁰ Quiroga, S., Acosta, J., Rottgardt, A., Masselin, J., Scasco, R. Observaciones y estudios experimentales acerca del mal de caderas de los vacunos del Norte de la Provincia de Corrientes. Su identidad con la rabia. *Rev. Med. vet.* 13: 5, 1931.
- ¹¹ Nehaul, B. B. G. Rabies transmitted by bats in British Guiana. *J. trop. Med. Hyg.*, 4: 550, 1955.
- ¹² Novicky, R. *Canad. J. comp. Med.*, 11: 335, 1947.
- ¹³ Hurst, E. W., Pawan, J. L. An outbreak of rabies in Trinidad. *Lancet*, 221: 622, 1931.

- ¹⁴ Verteuil, E. de, Urich, F. The study and control of paralytic rabies transmitted by bats in Trinidad, British West Indies. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 29: 317, 1936.
- ¹⁵ Pawan, J. L. The transmission of paralytic rabies in Trinidad by the vampire bat (*Desmodus rotundus murinus* Wagner, 1840) *Ann. trop. Med. Parasit.*, 30: 101, 1936.
- ¹⁶ Pawan, J. L. Rabies in the vampire bat of Trinidad, with special reference to the clinical course and the latency of infection. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 30: 401, 1936.
- ¹⁷ Pawan, J. L. Fruit-eating bats and paralytic rabies in Trinidad. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 42: 173, 1948.
- ¹⁸ Téllez Girón, A. El vampiro portador del virus del "derriengue." *Rev. Soc. mex. Hist. Nat.*, 5: 35, 1944.
- ¹⁹ Johnson, H. N. Derriengue: vampire bat rabies in Mexico. *Amer. J. Hyg.*, 47: 189, 1948.
- ²⁰ Venters, H. D., Hoffert, W. R., Scatterday, J. E., Hardy, A. V. Rabies in bats in Florida. *Amer. J. publ. Hlth.*, 44: 182, 1954.
- ²¹ Veterinary Public Health Newsletters. Communicable Disease Center (NCDC), Atlanta, Georgia, USA.
- ²² Avery, R. J., Tailyour, J. M. The isolation of the rabies virus from insectivorous bats in British Columbia. *Canad. J. comp. Med.* 24: 143, 1960.
- ²³ Beauregard, M., Stewart, R. C. Bat rabies in Ontario. *Canad. J. comp. Med.*, 28: 43, 1964.
- ²⁴ Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos de la OMS en Rabia. Quinto Informe. (Ser. Inf. Técn. N° 321). Ginebra, 1966.
- ²⁵ Reagan, R. L., Brueckner, A. L. Transmission of a strain of rabies virus to the large brown bat (*Eptesicus fuscus*) and to the cave bat (*Myotis lucifugus*). *Cornell Vet.*, 41: 295, 1961.
- ²⁶ Reagan, R. L., Delaha, E. C., Brueckner, A. L. Response of the cave bat to several strains of rabies virus. *Cornell Vet.*, 44: 318, 1954.
- ²⁷ Sulkin, S. E., Krutzsch, P. H., Allen, R., Wallis, C. Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats. I. Role of brown adipose tissue. *J. exp. Med.*, 110: 369, 1959.
- ²⁸ Sulkin, S. E., Allen, R., Sims, R., Krutzsch, P. H., Kim, C. Studies on the pathogenesis temperature. *J. exp. Med.*, 112: 595, 1960.
- ²⁹ Sims, R. A., Allen, R., Sulkin, S. E. Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats. III. Influence of the gravid state. *J. infect. Dis.*, 112: 17, 1963.
- ³⁰ Stamm, D. D., Kissling, R. E., Eidson, M. E. Experimental rabies infection in insectivorous bats. *J. infect. Dis.*, 98: 104, 1956.
- ³¹ Sadler, W. W., Enright, J. B. Effect of metabolic level of the host upon the pathogenesis of rabies in the bat. *J. infect. Dis.*, 105: 267, 1959.
- ³² Constantine, D. C. Transmission experiments with bat rabies isolates: reaction of certain carnivora, opossum, and bats to intramuscular inoculations of rabies virus isolated from free-tailed bats. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 16, 1966.
- ³³ Burns, K. F., Shelton, D. F., Grogan, E. W. Bat rabies: experimental host transmission studies. *Trans. N. Y. Acad. Sci.*, 70: 452, 1958.
- ³⁴ Baer, G. M. A method for bleeding small bats. *J. Mammal.*, 47: 340, 1966.
- ³⁵ Baer, G. M., Balcs, G. L. Experimental rabies infection in the Mexican freetail bat. *J. infect. Dis.*, 117: 82, 1967.
- ³⁶ Sikes, R. K. Pathogenesis of rabies in wildlife. I. Comparative effects of varying doses of rabies virus inoculated into foxes and skunks. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 1041, 1962.

CUADRO Ia

Experimento N° 1 — Desmodus rotundus inoculados con virus rábico de origen humano (subcutáneo, 0.1 cc.)
Pawan, 1936

Vampiro	Experimentos	Síntomas	Período de incubación (días)
N° 2	— *	—	11
„ 5	Los días 30° y 33° fue alimentado con la sangre de dos conejos, los cuales murieron de rabia.	parálisis mordiendo	74
„ 9	—	—	73
„ 11	Los días 82° y 84° fue alimentado con la sangre de dos conejos, los cuales murieron de rabia.	—	165
„ 12	Los días 37° y 54° fue alimentado con la sangre de dos becerros los cuales murieron de rabia.	—	112

* Ninguno.

CUADRO Ib

Experimento N° 2 — Desmodus rotundus inoculados con virus rábico de origen humano (subcutáneo, 0.2 cc.)
Pawan, 1936

Vampiro	Experimentos	Síntomas	Período de incubación (días)
N° 3	— *	—	9
„ 4	—	parálisis agresividad	17
„ 6	—	—	25
„ 7	Mordió a otros vampiros.	parálisis	38
„ 8	—	parálisis	38
„ 10	—	parálisis agresividad	66

* Ninguno.

CUADRO Ic

Experimento N° 4 — Desmodus rotundus inoculados con virus rábico de origen de vampiro (subcutáneo 0.3 y 0.4 cc.)
Pawan, 1936

Vampiro	Experimentos	Síntomas	Período de incubación (días)	Muerte por rabia
N° 1	Infectó una cabra el día 12	Violencia marcada	14	No murió, se recuperó

CUADRO II

Períodos de incubación y morbilidad en Tadarida b. mexicana inoculados con virus rábico aislado de la misma especie

Vía de Inoculación	Dosis DL ₅₀	Mortalidad	Período de Incubación Límites (días)	Período de Morbilidad - Límites (días)
Intracerebral	2000	7/7 ^a	25-33	5-11
	200	6/7	26-37	10-87
	20	5/6 ^d	14-38	5-20
	2	1/7	49	10
	0.2	1/7	177	≥ 4 ^c
Intramuscular	2000	2/7	32-33	5-6
	200	2/6 ^b	24-103	5-3
Subcutánea	2000	2/7	34-125	2
	200	1/7	50	7
Intranasal	2000	0/6 ^b		
	200	0/6 ^b		
	20	1/7	81	8

- a. Número de muertos por rabia/número de inoculados.
- b. Un muerto no específico.
- c. Murciélago matado en el 181° día.
- d. Un murciélago murió después de presentar síntomas típicos, pero los exámenes del laboratorio fueron negativos.

CUADRO III

Virus rábico en la saliva de Tadarida b. mexicana inoculados con virus rábico aislado de la misma especie

Inoculación		Número de murciélagos eliminando virus/ Número muriendo de rabia.	Número del murciélago	Período de morbilidad (días)	Virus encontrado en la saliva en los días	Número de días con virus en la saliva antes de síntomas	Presencia de virus en las glándulas salivales después de muerto.
Vía	Dosis (DL ₅₀)						
	2000	6/7	22 23 35 40 67 109	24-34a 31-38 23-33 24-28 24-31 31-40	19-26b 26-37 23-30 21-26 16-26 26-30	5 5 0 3 8 5	+ + + + + -
Intra-cerebral	200	3/6	32 57 105	24-32 26-37 32-43	21-32 26-35 28-35, 39-43c	3 0 4	+ + +
	20	4/5	26 42 81 170	14-18 28-30 33-53 37-41	12 23-30 33, 47-51c 25-39	2 5 0 12	+ + - +
	2	1/1	144	49-58	42, 47-57c	7	-
	0.2	1/1	110	177-181d	178		
Intra-muscular	2000	1/2	11	33-38	33-35	0	-
	200	0/2					
	2000	0/2					
Sub-cutánea	200	1/1	52	50-56	42	8	-
Intranasal	20	1/1	129	81-88	83-86	0	+

a. Murciélago N° 22 se enfermó el día 24° después de inoculación y murió el día 34°

b. Eliminación viral en la saliva entre el día 19° y el 26°.

c. Eliminación variable de virus.

d. Saliva tomada un día solamente, después de sangrado en blanco con los demás murciélagos sobrevivientes, el 181° día.

CUADRO IV

Período de incubación y título de las glándulas salivales submaxilares de *Tadarida b. mexicana* infectados después de inoculación periférica de virus rábico aislado de la misma especie

Período de incubación (días).	Títulos de las glándulas salivales submaxilares (-log DL ₅₀)
24	—
32	—
33	—**
34	—
50	—*
81	2.67**
103	2.08
125	—
181*	3.76

* Murciélago aparentemente sano matado en el 181º día.

** Se encontró virus en la saliva antes de la muerte.

CUADRO V

Anticuerpos (Sero-Neutralización) en *Tadarida b. mexicana* sangrados en blanco 181 días después de inoculación con virus rábico aislado de la misma especie

Inoculación		Murciélagos con anticuerpos	Títulos
Vía	Dosis (DL ₅₀)	Murciélagos sobrevivientes	
Intracerebral	200	1/1	1:32
	20	0/1	—
	2	1/6	1:12
	0.2	0/6	—
Intramuscular	2000	1/5	1:31
	200	0/4	—
Subcutánea	2000	1/5	1:12
	200	0/6	—
Intranasal	2000	0/6	—
	200	0/6	—
	20	2/6	1:12 1:12

Comentarios.

DR. JOHNSON — Dr. Baer, no sé si Ud. subrayó el hecho de que uno de sus murciélagos vivió 181 días después de la inoculación y, al morir, había virus presente en las glándulas salivales y en el cerebro.

En el estudio de la rabia, a veces el ganado puede infectarse con el virus de la pseudorabia, y este virus puede dar origen a confusiones, pues tiene un período de incubación similar en ratones y puede producir cuerpos de inclusión. El mayor problema en el estudio de una enfermedad es identificar definitivamente el agente aislado de los casos.

El murciélago *Phyllostoma*, que es carnívoro, hace pensar si la infección pudiera transmitirse por vía oral. Hay que recordar que en los primeros trabajos de rabia no se contaba con los métodos de diagnóstico e investigación que tenemos hoy día, y algunos de esos trabajos tal vez deberían repetirse. Especialmente con respecto a la infectividad de largo plazo de animales aparentemente normales.

Se mencionó un murciélago que albergó virus en la saliva durante 12 días antes de su muerte. Cuando nosotros trabajábamos con perros encontramos un animal aparentemente sano, pero su temperatura era elevada y tenía algunos síntomas muy leves, tales como sensibilidad de la piel y disminución de los reflejos corneales. Este es un estadio peligroso de la rabia canina desde el punto de vista de la transmisión del virus, puesto que los síntomas clínicos están casi totalmente ausentes. El animal es muy amistoso y tiene por consiguiente probabilidades de transmitir la enfermedad. Nosotros tuvimos perros que vivieron hasta 12 días después de manifestar esos síntomas. Este hecho debe ser tenido en cuenta al trabajar con murciélagos porque, en esos animales, es difícil detectar los primeros síntomas de rabia.

Algunos de los aislamientos de virus rábico notificados en Europa y el Medio Oriente no parecen estar bien documentados, pero los de Alemania y Turquía parecen ser auténticos, de manera que tenemos por lo menos 2 casos de rabia de murciélagos en Europa. Sin embargo, la situación observada en Estados Unidos parece no ser usual y probablemente declinará con el tiempo.

DR. BAER — Creo que va a ser muy difícil que acabe pronto la enzootia de rabia en el murciélago en Estados Unidos. Sobre todo en las cuevas existe una situación perfecta para el mantenimiento de la enzootia: poblaciones grandes, un incremento anual de murciélagos jóvenes susceptibles, contacto íntimo, contaminación de la atmósfera por virus.

DR. SIKES — Una de las cuestiones básicas con respecto a Estados Unidos es determinar el rol que desempeñan los murciélagos en la ecología de la rabia. Yo creo que el trabajo realizado por los Dres. Baer, Winkler y Constantine en New Mexico indica que no tenemos murciélagos portadores en Estados Unidos. Las cuevas donde se originan esos murciélagos pueden ser peligrosas para los animales y las

personas que penetran en ellas, pero no hay evidencia firme de que los murciélagos transmitan la infección a los animales terrestres. En apoyo de esta idea, muchos Estados notifican sólo rabia en murciélagos sin implicación de otros mamíferos.

DR. GREENHALL — Me gustaría referirme a la historia de las mordeduras y el murciélago *Diclidurus* que mencionó el Dr. Baer. Es una especie muy interesante y rara. En la época de Pawan se encontró uno sobre una vaca, que más tarde demostró estar rabioso. Fue en 1934. Desde entonces no se ha descubierto ningún otro ejemplar positivo. Hay unos pocos de esos murciélagos en Venezuela y América Central. Pero a lo que yo quería referirme es a qué estaba haciendo este animal sobre una vaca. Puede haber estado alimentándose de insectos que se encontraban en su piel. Además, es un murciélago nocturno, y fue encontrado durante el día. Los hábitos de los murciélagos, especialmente de los capturados, no son muy bien conocidos, ni tampoco la conducta normal de los murciélagos en general. Es bastante difícil con 300 ó 400 especies en América Central y América del Sur. Sin embargo, si no conocemos la conducta normal de los murciélagos difícilmente podremos hablar de la anormal. Hay algunas especies de murciélagos que normalmente vuelan durante el día. Los *Phyllostoma* son unos de los pocos murciélagos carnívoros de América, pero hasta la fecha sólo ha sido encontrado rábido en Brasil.

DR. JOHNSON — Me gustaría decir algo sobre la persistencia del virus en las colonias de murciélagos. En realidad, las colonias de murciélagos de las cuevas no son una población estable. El número fluctúa de tiempo en tiempo y la mayoría de las especies emigran en el invierno.

El trabajo sobre rabia realizado en las colonias de murciélagos en las cuevas ha sido excelente y los investigadores han encontrado hasta el 29% de los murciélagos jóvenes machos, capturados en las cuevas, como positivos para rabia. Es un alto porcentaje y representa una situación epizootica. Ha habido evidencia de infección en animales que aparentemente se han recuperado. Si la población de murciélagos de las cuevas es estable, sin animales que ingresen, esta situación epizootica no puede durar mucho. La razón de que la infección dure de un año para otro es que nuevos murciélagos vienen reintroduciendo la infección. Es similar a lo que ocurre con la epizootia en zorros, que aumenta o disminuye con el aumento y la disminución de la población de zorros. Esto es también verdadero para el derriengue, en México; fue solamente durante una epizootia de rabia en vacas, con numerosas muertes, que pudimos aislar el virus de vampiros.

En California, donde encontramos una cantidad de *Tadarida* positivos hace algunos años, ahora sólo vemos muy pocos de esa especie. Colonias de *Tadarida* previamente infectadas ahora parecen tener muy poco virus rábico. Parece que las poblaciones de este tamaño no pueden mantener la infección. Por otra parte, la mortalidad de murciélagos en un brote inicial es muy alta.

DR. BAER — Con respecto al 29%, creo que esa cifra nunca se ha podido volver a encontrar. En varias encuestas realizadas en las mismas cuevas se ha encontrado hasta el 1%, pero nunca más. Sin embargo, en el grupo de animales enfermos que uno encuentra arrastrándose por el interior de las cuevas sin poder volar, la tasa de infección sí llega a 65-70 %, pero es una población muy seleccionada. Con respecto a la presencia de anticuerpos, quiero hacer hincapié en que no es necesario pensar que los animales enfermaron y volvieron a sanar, y se recuperaron; es muy posible que, por contacto con los excrementos, quizás al respirar el aire contaminado con virus, por mordeduras pequeñas, hayan sido, podríamos decir, vacunados por otros murciélagos que tenían el virus en la saliva. Con respecto a no poder encontrar vampiros infectados fuera de la época de epizootia, tuve la experiencia, en una parte del Estado de Veracruz (México), donde colinda con Guajaca. Allí comenzó una epizootia bastante severa en 1963 en un pueblo llamado Vicente; murieron entre 4 y 6 mil cabezas de vacunos. La epizootia ha ido bajando y ahora casi no se encuentran animales enfermos en la región; el otoño pasado capturamos allí 9 vampiros y 2 de ellos fueron positivos para rabia, con virus en el cerebro y en las glándulas salivales.

DR. RENATO DA SILVA — Con relación a la patogénesis del virus de la rabia en murciélagos, nosotros hemos hecho 2 investigaciones en Brasil sobre la transmisibilidad del virus de la rabia en los órganos genitales. En la primera experiencia tenemos un murciélago *Desmodus rotundus* capturado en pleno día en el momento en que estaba sangrando un bovino. Aislamos virus de por lo menos 12 tejidos de este murciélago, incluyendo los testículos. El otro caso se refiere a una hembra capturada en las condiciones normales de vida, dentro de una cueva, en plena asociación con otros animales. Conseguimos aislar virus por lo menos del feto, del útero, del pulmón, de las glándulas parótidas, de la glándula submaxilar, de la sublingual, de la vejiga y de los riñones. Esto vendría a complicar mucho la epizootiología de la rabia, porque el virus podría ser transmitido de macho a hembra a través de la cópula, como también de la hembra al hijo por vía transplacentaria.

DR. FORREST. — Nosotros hemos titulado virus de murciélago *Desmodus rotundus rotundus* en los laboratorios de SELSA en Salta y Buenos Aires. En el segundo pasaje del material cerebral en ratones hemos obtenido títulos de $10^{-4.4}$ a $10^{-5.1}$; también de glándula parótida hemos podido aislar virus y hemos logrado un título de $10^{-4.5}$. Pero no hemos podido aislar virus de feto; hemos sacrificado una hembra en estado avanzado de gravidez, inoculamos en ratones feto, líquido y tejido uterino y no conseguimos la infección. En cuanto al porcentaje de positivos que señala el Dr. Baer, nosotros también hemos obtenido un porcentaje alto. En 1966, sobre 137 *Desmodus* capturados encontramos 30,65% de positivos; un promedio semejante obtuvimos en 1965.

Es decir, que en las zonas donde la rabia es enzoótica tenemos un porcentaje de infección que por ahora estimamos en alrededor del 30%.

DR. JOHNSON — El hallazgo de virus rábico en la glándula mamaria es muy interesante. Muchos virus pueden localizarse en esas glándulas, y con virus allí hay un alto grado de peligro potencial de transferencia a los lactantes. Nosotros hemos encontrado que si se inoculan con virus rábico hembras de ratones que están criando, éste puede a menudo ser aislado de las glándulas mamarias en el momento en que los animales desarrollan la enfermedad. Esto podría explicar casos observados en los cuales los cachorros de 6-7 días de edad desarrollan rabia, así como el aislamiento de virus rábico de murciélagos lactantes. Más bien que una transmisión a través de la sangre sería a través de la saliva; ya que la hembra lame y limpia a sus hijos. Finalmente, el virus puede ser transmitido a través de la leche. Especialmente si está en el calostro, porque este tipo de leche penetra el tracto intestinal muy fácilmente. Nosotros hemos aislado virus rábico de las glándulas mamarias de un mapache y de un zorrino manchado.

DR. ALVAREZ — Frente a la comunicación que ha hecho el Dr. Da Silva esta mañana, de recuperación de virus rábico a partir de sangre, yo quiero plantear una duda. En los casos en que se usa la vacuna de virus vivo para proteger al ganado bovino, si existe la posibilidad de una viremia de este tipo de virus modificado, ¿no es posible que los vampiros obtengan este virus a partir de su alimentación normal del vacuno? ¿Qué sucede en el vampiro expuesto a este virus modificado?

DR. BAER — Aparentemente, en el 99,99% de los casos no hay viremia en rabia. Creo que lo más importante es que no hay, como dijo el Dr. Habel esta mañana, una viremia en la etapa crítica de la enfermedad. En varias experiencias realizadas por diferentes investigadores se han podido cortar nervios y luego inyectar virus en el cojinete plantar sin que los animales mueran, ni con virus fijo ni con virus calle. Se ha podido aislar virus de la sangre en casos muy aislados de animales en el estado agónico de la rabia, ya casi a la muerte, cuando el virus puede penetrar en la sangre posiblemente por inflamación de los tejidos cerebrales. También existe una viremia en animales tratados con cortisona cuando ya están muy enfermos; son casos muy excepcionales. En animales vacunados muy pocas veces se ha encontrado viremia. Hay viremia en el embrión con la vacuna de bajo pasaje, pero que yo sepa no se ha encontrado aún con la vacuna de bajo pasaje una viremia en los animales inoculados.

DR. JOHNSON — El virus de bajo pasaje y el de alto pasaje fueron seleccionados para la producción de vacuna porque no se multiplican en las glándulas salivales. Fue pasado a propósito más de 100 veces en los cerebros de pollitos de un día para fijarlo y que no invadiera órganos o las glándulas salivales. Nunca hemos podido aislar este virus de la sangre o de los órganos de ratones inoculados, después

de las primeras horas de la inoculación, de manera que es casi imposible que un murciélago se infecte por virus de animales vacunados.

DR. HABEL — Otro punto para recordar con respecto al virus rábico en la sangre es que muchos animales que mueren de rabia tienen anticuerpos neutralizantes en la sangre, lo cual tiende a reducir o negar la presencia de una viremia.

DR. JOHNSON — Me gustaría comentar la afirmación del Dr. Habel. Nosotros hemos examinado la sangre de perros con rabia y nunca hemos podido aislar virus de allí.

DR. RENATO DA SILVA — En el caso en que nosotros aislamos virus de la sangre de una gata, el animal no estaba en el período final de la enfermedad, sino en el de parálisis. Quisiera preguntar al Dr. Baer cómo se explicaría la presencia de virus rábico en diferentes tejidos de murciélagos, principalmente *Desmodus*, en condiciones normales, sin síntomas. Hay trabajos de aislamiento de virus de diferentes tejidos de murciélagos completamente sanos.

DR. BAER — Bueno, como Ud. ha visto en los cuadros, un animal que matamos al final de la experiencia, a los 181 días, tuvo los títulos más altos en todos los tejidos examinados; tenía títulos de alrededor de 10^3 en cerebro, grasa café, glándulas salivales, y un poco más bajo en riñón, pulmón, y glándulas parótidas. Yo creo que ese animal iba a morir, que estaba al final del período de incubación; si hubiéramos sabido que estaba infectado no lo hubiéramos matado y hubiera presentado síntomas en pocos días muriendo de rabia. El virus, en los estadios terminales de la enfermedad puede llegar por pasaje centrífugo por los nervios a varios tejidos, después de implantarse en los tejidos empezar a multiplicarse entre el tejido mismo de las células, como en la grasa café. Porque en nuestra experiencia obtuvimos a veces títulos mayores en las glándulas salivales que en el cerebro, implicando una multiplicación bastante grande en los tejidos fuera del cerebro; y yo creo que llega ahí por los nervios.

DR. HABEL — Quisiera pedir al Dr. Baer que nos haga un breve comentario acerca de sus trabajos sobre patogénesis del virus rábico por medio de cortes en los nervios, disección anatómica, etc.

DR. BAER — Fueron dos estudios realizados en ratas, el primero con virus fijo y el segundo con virus calle. El virus fijo inoculado en el cojinete plantar de ratas tiene períodos de incubación de 5 a 6 días, y con el virus calle tratamos de escoger una cepa con períodos de incubación largos, siendo en su gran mayoría de 3 semanas a 1 mes. Titulamos los varios tejidos y se pudo comprobar primero la presencia de virus en el cojinete plantar. En las experiencias con virus fijo, en los animales sacrificados 1, 2, 3 y 4 días después de inoculados, y con virus calle 1, 3, 6, 7, 12 y 15 días después de la inoculación se pudo comprobar la presencia de virus en la segunda etapa en la parte lum-

bar de la médula espinal y no en los nervios. Después de la inoculación hay una fase de eclipse en la que el virus no se encuentra en los animales inoculados con virus calle, en ningún tejido. Para comprobar que el virus llega a la parte lumbar de la médula espinal por los nervios, primero cortamos los nervios antes de exponer los animales; no murió ninguno. Luego, para ver la rapidez con que el virus sube por los nervios, los cortamos a 1, 2, 3... hasta 24 horas después de inoculados los animales con virus fijo. No murió ninguno de los animales cuyos nervios habían sido cortados hasta las 8 horas; de los cortados a las 9 horas murieron el 50%, y después de las 10 horas no hubo protección alguna, mostrando que, aparentemente, el virus había llegado al lugar donde cortamos los nervios, a la mitad de la distancia entre el cojinete plantar y la médula espinal. Después, para tratar de averiguar por cual parte del nervio estaba subiendo el virus, tomamos unas pinzas y herimos el nervio para desmielinizarlo; comprobamos posteriormente que los animales no tenían axones ni mielina; sin embargo, tanto con virus fijo como con virus calle, los animales inoculados murieron. También se ha demostrado que las meninges bajan al sistema nervioso periférico llamándose el epitelio perineural; para ver si el virus subía en alguna parte fuera de las células de Schwann, quitamos el epineurio, el perineurio y el epitelio perineural, y después expusimos los animales. Los animales así expuestos murieron casi todos, demostrando que aún sin esa capa, y solamente con la presencia de las células de Schwann, la mielina y los axones, el virus puede sobrevivir. En otros animales con esa capa exterior quitada, observamos períodos de incubación más largos que en nervios normales, haciéndonos pensar que, debido a algún cambio en la fisiología del nervio, el virus subía con más lentitud. Pensamos que el virus rábico sube por las células de Schwann, por el neurilema o por espacios cerca de esas 2 capas. En la primera experiencia con virus fijo no encontramos virus en la sangre de los animales sacrificados inmediatamente después de la inoculación y 1, 2, 3 y 4 días más tarde. De manera que, usando virus calle y virus fijo en la rata no hay viremia y se puede, inclusive, localizar con bastante exactitud en qué parte del nervio sube el virus.

DR. FERNANDES — Cuando Ud. presiona los nervios, ¿sabe si las células Schwann desaparecen? Ud. sabe que la mielina desaparece, pero lo hacen las células Schwann? Porque se ha demostrado que están asociadas con la formación de mielina.

DR. BAER — En las secciones histológicas se vio que los tubos de las células Schwann todavía estaban presentes. En las secciones tomadas antes de herir el nervio vimos el nervio entero; inclusive en la parte de arriba de la herida vimos el axón, la mielina, las células Schwann. Después solamente vimos el tubo con las células de Schwann intacto y, por supuesto, la parte de afuera, que en otro experimento habíamos quitado.

DR. FUENZALIDA — Hay algo que llama la atención en uno de los cuadros, en aquel en que usan varias vías de inoculación para murciélagos; de uno de los animales se aísla virus de la saliva, y no se encuentra virus posteriormente en las glándulas salivales. ¿Qué explicación podría tener este hallazgo en un número no muy grande de animales, 20 ó 30?

DR. BAER — Lamentablemente no hicimos fluorescencia con esas glándulas salivales, porque al momento de darnos cuenta de que no tenían virus ya estaban todas molidas y en los ratones. Muy posiblemente hubiera habido fluorescencia en esas glándulas salivales; quizás por anticuerpos terminales o por la sustancia que ha encontrado el Dr. Sikes, lo que llama el factor que inhibe la rabia, podría haber bajado el título y así esterilizarse las glándulas.

DR. FUENZALIDA — Hace algunos años, con el objeto de verificar la idea de que basta con el análisis de las glándulas salivales, extraje las papilas gustatorias de la lengua de varios perros positivos. Después de repetidos lavados para eliminar todo virus superficial, se inculó este material en ratones, dando resultados positivos. De manera que pareciera que también las terminaciones nerviosas diferenciadas en la boca podrían contener virus.

DR. HABEL — Yo no cuento con evidencias que sugieran que el virus rábico se localiza en las terminaciones de los nervios de los animales afectados.

DR. JOHNSON — Me gustaría comentar las palabras de los Dres. Fuenzalida y Sikes. Nosotros aislamos virus de las glándulas salivales de perros mientras estaban vivos, y luego, cuando murieron por rabia, las glándulas resultaron negativas. Esto puede ser debido a la producción de anticuerpos, o quizás el virus que nosotros aislamos provenía de las glándulas lacrimales.

DR. SA FLEITAS — Pediría a la Dra. Crescini nos comente el hallazgo de rabia en un murciélago de la zona del puerto en la ciudad de Buenos Aires.

DRA. CRESCINI — Sobre el caso a que se refiere el Dr. Sa Fleitas no es mucho lo que puedo decir, porque ignoro el origen del animal. Se nos hizo llegar un murciélago, cuya identificación zoológica no se hizo. Por inoculación a ratones se aisló virus, resultado además Sellers positivo. Francamente, esos son todos los datos que tenemos.

DR. SA FLEITAS — Yo tenía entendido que el espécimen vino de la zona del puerto.

DRA. CRESCINI — Exactamente, de la zona del puerto, pero no es un animal de ubicación lógica en esa zona, por lo que tal vez pudo haber venido del norte.

LA PRESENCIA DEL VIRUS RÁBICO EN EL ÚTERO, FETO, TESTÍCULOS Y OTROS ORGANOS DE LOS MURCIÉLAGOS HEMATÓFAGOS (*DESMODUS ROTUNDUS*), EN INFECCIONES NATURALES

RENATO AUGUSTO DA SILVA * Y ARY MOREIRA DE SOUZA **

Sumario.

Se aisló virus rábico de los testículos, útero y feto, glándulas salivales e interescapulares, lengua, músculo pectoral, bazo, riñones, corazón, pulmones, vejiga y cerebro de murciélagos hematófagos, *Desmodus rotundus*, naturalmente infectados, inoculando ratones adultos y lactantes por vía intracerebral.

Las muestras de virus aisladas de los diferentes tejidos fueron identificadas como virus rábico, por la formación de corpúsculos de Negri en el citoplasma de las células nerviosas del cerebro de ratones inoculados.

Introducción.

Continuando los estudios sobre virus rábico en el orden de los quirópteros, describimos en este trabajo recientes investigaciones realizadas con 3 ejemplares de *Desmodus rotundus* con infección rábica natural. Los aislamientos de virus del útero, feto y testículos, constituyen en nuestro medio y en América del Sur, según lo que sabemos, las primeras observaciones sobre el asunto; este hecho es de gran importancia en la epizootiología de la rabia, pues demuestra infección transplacentaria y otras vías de transmisión de la enfermedad.

Materiales y Métodos.

Los 3 murciélagos *Desmodus rotundus* que sirvieron de base para nuestras investigaciones fueron capturados en los Municipios de Pirapetinga y Recreio, ambos en el Estado de Minas Gerais, y en el Municipio de São Fidélis, Estado de Río de Janeiro, por el Dr. Odon Antao de Alencar, veterinario de la Campaña de Combate contra la Rabia de los Herbívoros, del Servicio de Defensa Sanitaria Animal del Ministerio de Agricultura.

Primer caso: Se refiere a un *Desmodus rotundus*, macho, capturado a las 6 de la mañana del día 18 de abril de 1967 en el Municipio

* Jefe de la Sección de Zoonosis por Virus del Instituto de Investigaciones y Experimentaciones Agropecuarias del Centro Sur —DPEA— Ministerio de Agricultura. Profesor adjunto de la Cátedra de Microbiología e Inmunología de la Universidad Federal de Río de Janeiro.

** Veterinario de la Sección de Zoonosis por Virus del Instituto de Investigaciones y Experimentaciones Agropecuarias del Centro Sur —DPEA— Ministerio de Agricultura.

de Pirapetinga, Estado de Minas Gerais, mientras estaba mordiendo a una vaca. Extrajimos el cerebro, glándulas parótidas, submaxilares, sublinguales, interescapulares, los pulmones, riñones, músculo pectoral, bazo, corazón, lengua, hígado, testículos, y finalmente la vejiga que se encontraba libre de orina. Los diversos materiales recibieron el número 3.666 en el libro de registro de la Sección Virus.

Segundo caso: Se refiere a otro *Desmodus rotundus*, macho, capturado en el Municipio de Recreio, Estado de Minas Gerais. De este animal extrajimos los siguientes tejidos: cerebro, glándulas parótidas, submaxilares, interescapulares, la lengua, corazón, hígado, pulmones, riñones, bazo, vejiga y testículos, materiales que fueron registrados bajo el número 3.679 en la Sección de Virus.

Tercer caso: También se trata de un *Desmodus rotundus*, hembra, capturado en el interior de una cueva en el Municipio de São Fidélis, Estado de Río de Janeiro, el día 24 de mayo de 1967.

En este animal, preñado, sólo encontramos un embrión en una fase bastante adelantada de su desarrollo. Extrajimos las glándulas submaxilares, parótidas, interescapulares, sublinguales y también los pulmones, corazón, riñones, bazo, hígado, músculo escapular, la vejiga (libre de orina), músculo pectoral, el útero y el feto. Los diferentes materiales recibieron el número 3.754 en nuestro libro registro de la Sección de Virus.

Para el aislamiento del virus, preparamos suspensiones de cada tejido al 10% en suero fisiológico, lavándolos previamente en solución salina para eliminar la sangre. A continuación, cada suspensión fue tratada con una mezcla de antibióticos (1000 U.I. de penicilina potásica y 1 mg. de estreptomina sódica por cada ml. de emulsión). Después de 10 minutos de centrifugación a 2500 rpm separamos el sobrenadante del sedimento, sembrándolo en caldo simple y agar sangre. Utilizamos ratones de 5 días de edad para las suspensiones correspondientes al primer murciélago, con excepción de la suspensión de cerebro que fue inoculada en ratones adultos de 21 días de edad. Las suspensiones del material N° 3.754 fueron inoculadas a veces en ratones de 21 días de edad y otras veces en ratones de 5 días. Las suspensiones de las glándulas submaxilares, parótidas, interescapulares, sublinguales, músculo escapular, vejiga, músculo pectoral, útero y feto, fueron inoculadas en animales de 21 días. Las suspensiones de pulmón, corazón, riñones y bazo fueron inoculadas en ratones de 5 días de edad.

Las suspensiones correspondientes al material del segundo caso (N° 3.679), fueron solamente inoculadas en ratones de 21 días de edad.

La investigación de los corpúsculos de Negri se realizó sobre los cerebros de los ratones que presentaron síntomas de rabia así como en los de aquellos que no presentaron síntomas, utilizándose para tal fin la técnica de Faraco².

Con el objeto de mantener el virus aislado de los diferentes tejidos, se realizaron pasajes subsiguientes en ratones.

Resultados

Las suspensiones correspondientes a los materiales Nos. 3666, 3679 y 3754 no evidenciaron crecimiento en los medios de caldo simple y agar sangre.

En los Cuadros I, II y III pueden observarse los resultados de la inoculación en ratones, los cuales dan lugar a las siguientes interpretaciones:

Primer caso - material 3666: La inoculación de las suspensiones de cerebro, glándulas parótidas, submaxilares, interescapulares, sublinguales, los pulmones, riñones, músculo pectoral, bazo, corazón, lengua, testículos y vejiga, determinó la aparición de síntomas de rabia en los ratones. La suspensión de hígado resultó negativa.

Segundo caso - material 3679: Las suspensiones de cerebro, glándulas interescapulares, parótidas, submaxilares, la lengua, corazón y pulmones resultaron positivas al inocularlas en ratones. Las suspensiones de hígado, riñones, bazo, vejiga y testículos fueron negativas.

Tercer caso - material 3754: Las suspensiones de glándulas submaxilares, parótidas, sublinguales, de corazón, riñones, vejiga, útero y feto, resultaron positivas para rabia por inoculación en ratones, mientras que las suspensiones de glándulas interescapulares, de pulmones, bazo, hígado, músculo escapular y músculo pectoral resultaron negativas.

Los cerebros de los ratones sacrificados en la fase paralítica de la enfermedad presentaron corpúsculos de Negri típicos. Lo mismo se observó en los cerebros de ratones que no presentaron síntomas y que fueron sacrificados en el período final de observación, esto es, 30 días después de la inoculación. Los cerebros de los ratones inoculados con las suspensiones consideradas negativas no presentaron ninguna formación semejante a los corpúsculos de Negri.

Discusión y conclusiones

Analizando los resultados de los trabajos sobre el comportamiento del virus rábico en murciélagos *Desmodus rotundus* naturalmente infectados, es lógico concluir que, en esta especie animal, el virus de la rabia se distribuye en los diferentes tejidos independientemente de la forma clínica con que se manifiesta la enfermedad. Así es que, durante nuestras investigaciones, aislamos virus rábico del cerebro, pulmones, corazón, lengua, bazo, riñones, vejiga, glándulas salivales, músculo pectoral, testículos y glándulas interescapulares de murciélagos capturados durante el día; igualmente pudimos aislar virus de las glándulas salivales, corazón, riñones, vejiga, útero y feto de un ejemplar de *Desmodus rotundus* capturado en su habitat natural, o sea en el interior de una cueva, donde formaba parte de una colonia. No presentaba síntomas de enfermedad, al igual que los demás componentes del grupo. Trabajos de investigadores de América del Norte, y nuestros,

apoyan esta afirmación, pues aislaron virus rábico de ratones o detectaron el antígeno viral por inmunofluorescencia en diferentes tejidos de murciélagos enfermos y de otros aparentemente sanos^{1, 4, 9, 10}.

Creemos que la llegada del virus rábico a los diferentes tejidos se realiza por vía sanguínea, pues este hecho ya ha sido demostrado varias veces en condiciones experimentales. Reagan y col.⁷, al inocular muestras de virus rábico en murciélagos, por vía intraperitoneal, observaron infección en la sangre en las primeras 48 horas. Pacheco y Proença⁶, demostraron la presencia de virus rábico en el torrente sanguíneo de conejos inoculados por diferentes vías. Con respecto al embrión de pollo, Koprowski y Cox⁵, inoculando una muestra de "Flury" en el saco vitelino aislaron el virus de la sangre en el 3º y 15º días, después de inoculación por pasajes cerebrales en ratones.

El virus rábico fue también comprobado en murciélagos recién nacidos por Schneider y col.⁸ y Constantine³; cerca del 20 % de los murciélagos sin cola poseían anticuerpos para la rabia; los fetos de hembras inmunes también lo son, indicando un pasaje transplacentario de los anticuerpos. El virus, por otra parte, no había sido aislado de fetos. Murciélagos sin cola lactantes, muy jóvenes para volar, han sido encontrados en el interior de las cuevas. Estos murciélagos lactantes posiblemente se infectan por vía aérea; también murciélagos amarillos han sido encontrados infectados en la naturaleza, y ellos viven aisladamente, al aire libre, en el follaje de los árboles. Morde-duras, lamedura materna, u otros métodos de transmisión pueden ocurrir entre las crías de una o de ambas especies.

En la presente investigación conseguimos aislar virus rábico de los testículos, útero y también de feto, además de otros órganos, de *Desmodus rotundus* infectados naturalmente, y en base a estos hallazgos podemos admitir la posibilidad de la existencia de otras formas de propagación y perpetuación de la rabia en la naturaleza.

La presencia de corpúsculos de Negri fue siempre observada en las células nerviosas de los cerebros de los ratones que presentaron síntomas de rabia; destacamos además el hecho de haber encontrado tales corpúsculos en los cerebros de ratones que no presentaron signos visibles de la enfermedad, después de 30 días de la inoculación y pertenecientes al mismo lote de los animales que mostraron síntomas definidos de infección rábica, lo que nos lleva a pensar en una forma sub-clínica de la enfermedad.

Agradecimiento

Expresamos nuestro agradecimiento al Dr. Odon Antao de Alencar, veterinario del Plan de Combate contra la Rabia de los Herbívoros, del Servicio de Defensa Sanitaria Animal, por el trabajo de captura y envío de los murciélagos, como también a los laboratoristas, Sres. Argemiro Lourenço y Adhemar Lourenço, por su dedicación durante el desarrollo de los trabajos.

REFERENCIAS

- ¹ Bell, J. F.; Moore, G. T.; Raymond, G. H.; Tibbs, C. E. Characteristics of rabies in bats in Montana. *Amer. J. publ. Hlth.*, 52: 1923-1301, 1962.
- ² Bier, O. *Bacteriologia e Imunologia*. 10 ed. Edições Melhoramentos, p. 821-822, São Paulo, 1961.
- ³ Constantine, G. Recent advances in our knowledge of bat rabies. *International Symposium on Rabies*, 1:251-254, 1965. Talloires, France.
- ⁴ Girard, K. F.; Hitchcock, H. B.; Edsall, G.; Mac Cready, R. A. Rabies in bats in Southern New England. *New Engl. J. Med.* 272:75-80, 1965.
- ⁵ Koprowski, H.; Cox, H. E. Occurrence of rabies virus in the blood of developing chick-embryos. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 68:612-615, 1948.
- ⁶ Pacheco, G.; Proença, M. C. O vírus da raiva bovina do Brasil circula no sangue e se pode transmitir por via sanguínea (Nota previa.) *Brasil Méd.*, Nº 31, Ano L:661, 1936.
- ⁷ Reagan, L. R. y col. Early appearance of rabies virus in the blood of cave bats exposed by intraperitoneal infection. *Cornell Vet.*, 45:153-156, 1955.
- ⁸ Schneider, N. J. y col. Rabies in bats in Florida. *Amer. J. publ. Hlth.*, 47:983-989, 1957.
- ⁹ Silva, R. A.; Souza, A. M. Aislamiento de virus rábico de pulmón, corazón, riñón, vejiga y otros diferentes tejidos de murciélagos hematófagos de la especie *Desmodus rotundus*. V Congr. Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Caracas, Venezuela, 1966.
- ¹⁰ Villa, B. R.; Alvarez, B. L.; Domínguez, C. C. Presencia y persistencia del virus de la rabia en la glándula interescapular de algunos murciélagos mexicanos. *Ciencia (Revista Hispano-Americana de Ciencias Puras y Aplicadas)*, 22(5): 137-140, 1963.

CUADRO I

Material N° 3666 — Desmodus rotundus (macho) capturado durante el día en el Municipio de Pirapitinga - Estado de Minas Gerais

Tejidos inoculados	Día de inoculación	Dosis en ml.	Vía	Incubación		Relación muertos / inoculados		Investigación de corpúsculos de Negri
				Lactantes	Adultos	Lactantes	Adultos	
Cerebro	18.4.67	0,03	i. cer.	—	8 días	—	6/6	Positivo
Parótida	18.4.67	0,03	i. cer.	10 días	—	8/8	—	Positivo
Submaxilar	18.4.67	0,03	i. cer.	8 días	—	8/8	—	Positivo
Sublingual	18.4.67	0,03	i. cer.	11 días	—	8/8	—	Positivo
Pulmón	18.4.67	0,03	i. cer.	11 días	—	8/8	—	Positivo
Corazón	18.4.67	0,03	i. cer.	10 días	—	5/8 +	—	Positivo
Bazo	18.4.67	0,03	i. cer.	9 días	—	5/8 +	—	Positivo
Riñón	18.4.67	0,03	i. cer.	10 días	—	7/8	—	Positivo
Hígado	18.4.67	0,03	i. cer.	—	—	0/7	0/5	—
Vejiga	18.4.67	0,03	i. cer.	—	12 días	—	5/7 +	Positivo
Lengua	24.4.67	0,03	i. cer.	10 días	—	5/5	—	Positivo
Músc. pectoral	18.4.67	0,03	i. cer.	11 días	—	7/8 ++	—	Positivo
Testículo	18.4.67	0,03	i. cer.	—	12 días	—	3/5 +	Positivo

+ Después de 30 días de observación los ratones sobrevivientes fueron sacrificados y la búsqueda de corpúsculos de Negri resultó positiva.

++ Después de 30 días de observación los ratones sobrevivientes fueron sacrificados y la búsqueda de corpúsculos de Negri resultó negativa.

CUADRO II

**Material N° 3679 — Desmodus rotundus (macho) capturado en una cueva
en el Municipio de Recreio - Estado de Minas Gerais**

Tejidos inoculados	Día de inoculación	Dosis en ml.	Vía	Incubación		Relación muertos / inoculados		Investigación de cor- púsculos de Negri
				Lactantes	Adultos	Lactantes	Adultos	
Cerebro	10.5.67	0,03	i. cer.	—	9 días	—	8/8	Positivo
Parótida	30.5.67	0,03	i. cer.	—	6 días	—	8/8	Positivo
Submaxilar	30.5.67	0,03	i. cer.	—	10 días	—	8/8	Positivo
Interescapular	12.5.67	0,03	i. cer.	—	11 días	—	5/7	Positivo
Lengua	30.5.67	0,03	i. cer.	—	13 días	—	4/8	Positivo
Corazón	30.5.67	0,03	i. cer.	—	14 días	—	1/8	Positivo
Hígado	30.5.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—
Pulmón	30.5.67	0,03	i. cer.	—	13 días	—	4/8	Positivo
Riñón	30.5.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—
Bazo	30.5.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—
Vejiga	30.5.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—
Testículo	30.5.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—

CUADRO III

Material N° 3754 — Desmodus rotundus (hembra) capturado en una cueva
en el Municipio de São Fidelis - Estado de Rio de Janeiro

Tejidos inoculados	Día de inoculación	Dosis en ml.	Vía	Incubación		Relación muertos / inoculados		Investigación de cor- púsculos de Negri
				Lactantes	Adultos	Lactantes	Adultos	
Parótida	27.6.67	0,03	i. cer.	—	7 días	—	8/8	Positivo
Submaxilar	27.6.67	0,03	i. cer.	—	7 días	—	8/8	Positivo
Sublingual	27.6.67	0,03	i. cer.	—	14 días	—	6/6	Positivo
Interescapular	27.6.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/6	—
Pulmón	27.6.67	0,03	i. cer.	—	—	0/6	—	—
Corazón	27.6.67	0,03	i. cer.	9 días	—	3/6	—	Positivo
Bazo	10.7.67	0,03	i. cer.	—	—	0/8	—	—
Riñón	27.6.67	0,03	i. cer.	12 días	—	7/7	—	Positivo
Hígado	30.6.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—
Vejiga	30.6.67	0,03	i. cer.	—	17 días	—	2/8	Positivo
Músc. pectoral	30.6.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/7	—
Músc. escapular	30.6.67	0,03	i. cer.	—	—	—	0/8	—
Útero	30.6.67	0,03	i. cer.	—	12 días	—	1/8	Positivo
Feto	30.6.67	0,03	i. cer.	—	12 días	—	1/8	Positivo

CAPITULO IV

EPIDEMIOLOGIA DE LA RABIA BOVINA PARALITICA

Y DE LA RABIA DEL MURCIELAGO *

PEDRO N. ACHA **

Historia

La rabia paralítica de los bovinos recibe en cada país de América latina diferentes nombres: "mal de caderas" y "rabia paresiante" en la Argentina; "peste das cadeiras" en el Brasil; "hueguera" y "renguera" en Colombia y Costa Rica; "derriengue", "derrengue" y "tronchado" en México; "huequera" en Panamá; "mal de caderas" y "tumbi baba" en Paraguay. Tellez Girón sugirió el nombre de rabia desmodina para uniformar su designación, pero consideramos más apropiado el de "rabia transmitida por murciélagos" ya que pueden ser afectados tanto el hombre como los animales domésticos y no siempre en forma paralítica.

¿Desde cuándo existe la rabia del murciélago? Allen, en su libro "Bats" habla de una arcaica prescripción médica que prevenía contra el peligro de tomar estiércol pulverizado de murciélago, o la lengua o el corazón de este animal, porque provocaban horror al agua y consecutivamente la muerte. Esta cita de Aldrovandi (1681) parece ser la primera prueba de que en Europa los murciélagos padecían de rabia. Con respecto al Nuevo Mundo, no se puede precisar si la rabia de los murciélagos existía antes de la época precolombina, pero sí se puede afirmar que desde tiempos muy remotos se había deificado al murciélago y se le asociaba con la muerte de hombres y animales. Durante la Conquista se registraron algunos hechos que señalan la posibilidad de contraer rabia por la mordedura de murciélagos hematófagos. Fernández de Oviedo señala que durante la conquista del Darién, en Panamá, muchos soldados murieron como

* Trabajo presentado parcialmente en la Reunión Regional de Rabia de la OIE en París, en febrero de 1967, y publicado en inglés en el Bull. Off. int. Epiz., 67:343-382, 1967.

** Asesor Regional en Medicina Veterinaria, Organización Panamericana de la Salud, OPS/OMS, Washington, D. C.

resultado de mordeduras de vampiros, y en Yucatán, México, los murciélagos atacaron a los hombres y animales de las tropas de Francisco de Montejo.

Las primeras investigaciones sobre esta enfermedad estuvieron relacionadas con los brotes que se presentaron en el Brasil entre 1906 y 1908, en equinos y bovinos, así como otros herbívoros; pero no fue sino en 1911 cuando el Dr. Carini, del Instituto Pasteur de São Paulo, observó la presencia de corpúsculos de Negri en el cerebro de uno de los bovinos que examinaba; con ese material encefálico logró producir rabia paralítica en conejos. Carini consideró que se trataba de un cuadro característico de rabia paralítica y que algún animal silvestre alado podría ser responsable de la transmisión. Fueron las gentes del lugar las que sugirieron la posibilidad de que los murciélagos estuvieran involucrados, ya que habían observado su comportamiento anormal al volar durante el día y los habían visto morder a los animales; notaron además que los animales mordidos se enfermaban y morían.

Durante el período de 1914 a 1918, en la zona lechera de Blumenau, en la parte meridional de Brasil, se desarrolló una epizootia aguda, la que fue estudiada por Haupt y Rehaag. Este último, en 1916, inoculó un conejo y un caballo con tejido nervioso de un murciélago clasificado con el nombre de *Philostoma superciliatum*, cuya identidad no se ha podido establecer hasta la fecha. Estos autores confirmaron que la enfermedad era en efecto rabia, pero que los brotes observados no tenían relación con la rabia canina, que también existía en la zona. Como lo hiciera primero Carini, también Rehaag y Haupt postularon que los murciélagos rabiosos propagaban el virus. Más tarde, en 1920, los doctores Lima y Torres, examinando murciélagos de diferentes especies en zonas afectadas, encontraron que los vampiros estaban infectados en una mayor proporción que los murciélagos frugívoros y que, además, eran excelentes huéspedes y vectores del virus rábico por lo que señalaron al vampiro común como el vector más importante en la transmisión de la rabia.

Se presentaron otros brotes de la enfermedad en Paraguay, Argentina, Brasil y Venezuela; en ninguno de estos países se pudo observar relación entre la rabia de los murciélagos y los casos de rabia en la población canina. En Paraguay estas dos formas epidemiológicas se presentaron en una misma región, pero no se observó ninguna correlación en cuanto al momento de aparición, ni en la distribución geográfica de uno y otro brote; además, por lo general, la rabia de origen canino en los bovinos se presenta sobre todo en las áreas conurbanas o en sus proximidades, como casos aislados dentro de un hato; mientras que, en la rabia transmitida por murciélagos, los casos son numerosos y ocurren en toda la localidad.

En 1925 se presentó, en el ganado de la isla de Trinidad, una afección paralítica de carácter mortal que, en un principio, se atribuyó a botulismo o plantas tóxicas. Los primeros casos en el hombre

se registraron en 1929. Pawan observó cuerpos de inclusión, semejantes a los corpúsculos de Negri, tanto en material procedente de seres humanos como del ganado; Hurst, Flexner, Roux y Finzi confirmaron el diagnóstico de rabia y afirmaron que el virus aislado era idéntico al que producía la rabia bovina paralítica en el Continente y que entre esas cepas y el virus rábico fijo (cepa de París) había inmunidad cruzada.

En 1931, Pawan aisló virus rábico de *Artibeus planirostris*, *Desmodus rotundus*, y *Hemiderma* *; después logró infectar experimentalmente *Desmodus* y *Artibeus*, y describió las formas clínicas de la enfermedad en murciélagos y en animales de laboratorio, inoculados con material procedente de vampiros; comprobó que un vampiro podía continuar infectando hasta cinco meses y medio, sin presentar síntomas, y afirmó que los quirópteros, principalmente los hematófagos, eran vectores de la rabia en Trinidad.

En México, en 1932, Tellez Girón reprodujo experimentalmente el "derriengue" o "tronchado" y demostró que la saliva de bovinos era infecciosa; describió las lesiones características de la rabia en los animales, tanto en la enfermedad natural como en la provocada experimentalmente, y afirmó que la rabia y el derriengue constituían una misma entidad patológica. En 1943, el doctor Johnson aisló en el Instituto Rockefeller el virus rábico del cerebro de un bovino, durante un brote de derriengue. Al año siguiente inició en México un estudio para relacionar los brotes de derriengue con la rabia de los vampiros, logrando aislar el virus de murciélagos capturados en la zona epizoótica y comprobar así esta relación.

En los años siguientes, diversos investigadores estudiaron la enfermedad en Venezuela, Colombia, Centroamérica y Panamá. Hasta entonces se había considerado la enfermedad como un problema de sanidad animal que sólo tenía relativa importancia para la salud pública, no obstante los casos humanos de Trinidad y los que más tarde se presentaron en México. En junio de 1953 en la Florida, Estados Unidos, un muchacho que jugaba béisbol fue atacado por un murciélago cuando buscaba su pelota en la maleza. Llevado el murciélago al laboratorio, se aisló de él el virus rábico. Este incidente concentró la atención mundial en el peligro que la rabia en los murciélagos insectívoros representaba para la salud pública. Al lograrse nuevos aislamientos y repetirse los ataques de murciélagos a personas, se multiplicaron los estudios, y como resultado se comprobó que, en Estados Unidos, diversas especies de murciélagos insectívoros se encontraban infectadas. Hasta junio de 1966, se habían registrado 1.777 aislamientos, varios contactos con murciélagos rabiosos y ataques sin provocación, registrándose 5 defunciones humanas. Todos los estados de la Unión, con excepción de Rhode Island, Alaska y Hawaii, han notificado casos de rabia en murciélagos. En Canadá se notificó por

* *Carollia p. perspicillata*.

primera vez en 1957 en Columbia Británica y luego en Ontario, en 1964, pero aunque hubo exposición no se produjeron decesos. En cerca de la mitad de las 40 especies de murciélagos insectívoros que viven en Estados Unidos y el Canadá se ha aislado el virus de la rabia, y en la América tropical, además de los murciélagos hematófagos, se han encontrado infectados murciélagos omnívoros, insectívoros, frugívoros e ictiófagos (Cuadro I).

CUADRO 1 — Rabia en murciélagos de las Américas.

Especies	País	Notificado por:
Hematófagos		
<i>Desmodus rotundus</i>	México, Centro y Sud América	Varios
<i>Diphylla ecaudata</i>	Brasil, Venezuela, México y América Central	Queiroz de Lima, Gallo, Málaga, Acha
<i>Diaemus youngi</i>	Trinidad	Málaga, Greenhall
Omnívoros		
<i>Phyllostomus superciliatum</i>	Brasil	Rehaag
<i>Phyllostomus h. hastatus.</i>	Brasil	Málaga, R. da Silva
<i>Phyllostomus d. discolor</i>	América Central	Acha
Insectívoros		
<i>Antrozous p. pallidus</i>	Texas, E.U.A.	Burns, J. F.
<i>Diclydurus albus</i>	Trinidad	Pawan
<i>Dasypterus floridanus</i>	Florida, E.U.A.	Venters, y col.
<i>Chilonycteris personata</i>	México	Burns, J. F.
<i>Chilonycteris psilotis</i>	México	Málaga, Villa
<i>Eptesicus brasiliensis</i>	Brasil	
<i>Eptesicus fuscus</i>	Montana, Ohio, Arizona, Michigan, E.U.A.	Bell, Tjalma
	Columbia Británica, Ontario, Canadá	Avery, Tailyour, Beauregard, Stewart
<i>Lasiurus seminolus</i>	Florida, E.U.A.	Venters y col.
<i>Lasiurus cinereus</i>	Pennsylvania, Montana, Arizona, E.U.A.	Tellez Girón, Burns
<i>Lasiurus borealis</i>	Texas, Florida, E.U.A.	Bell
<i>Laionycteris noctivagans</i>	California, Indiana, E.U.A.	Irons, Schneider
	Columbia Británica, Canadá	Humphrey y col.
<i>Macrotus mexicanus</i>	México	Avery, Tailyour
<i>Macrotus californicus</i>	California, E.U.A.	Tellez Girón, Burns
<i>Molossops planirostris</i>	Panamá	Enright, J.
<i>Molossus coibensis</i>	Panamá	Matheney, Gale
<i>Molossus sinaloae</i>	Honduras	Matheney, Gale
<i>Molossus ater</i>	Venezuela	Acha
<i>Molossus major</i>	Trinidad	Briceño Rossi
<i>Myotis austroriparius</i>	Florida, E.U.A.	Greenhall
<i>Myotis grisescens</i>	Florida, E.U.A.	Schneider y col.
<i>Myotis velifer</i>	Texas, E.U.A.	Schneider y col.
<i>Myotis californicus</i>	California, Montana, E.U.A.	Burns
<i>Myotis n. nigricans</i>	Panamá	Enright, Bell
<i>Myotis lucifugus fortidens</i>	América Central, E.U.A. (6 Estados)	Matheney, Gale
	Columbia Británica, Canadá	Acha, Informe VPH-CDC
		Avery, Tailyour

<i>Myotis yumanensis</i>	E.U.A.	
<i>Myotis evotis</i>	E.U.A.	
<i>Myotis volans</i>	E.U.A.	
<i>Mormoops m. megalophylla</i>	México, Texas, E.U.A.	Villa, Burns, J. F.
<i>Nycticeius humeralis</i>	E.U.A.	
<i>Pipistrellus subflavus</i>	Florida, E.U.A.	Schneider y col.
<i>Pipistrellus hesperus</i>	Montana, E.U.A.	Bell
<i>Plecotus townsendii</i>		
<i>Pteronotus davvy</i>	Trinidad	Greenhall
<i>Rhogeessa parvula</i>	México	Cifuentes
<i>Tadarida b. mexicana</i>	Texas, California, E.U.A.	Irons, Enright
<i>Tadarida cynocephala</i>	Luisiana, Texas, E.U.A.	Burns, J. F.
<i>Tadarida yucatanica</i>	México	Villa
<i>Tadarida molossa</i>	E.U.A.	
Frugívoros		
<i>Artibeus jamaicensis trinitatis</i>	Trinidad	Pawan
<i>Artibeus literatus palmarum</i>	México, América Central, Trinidad	Málaga Alba y col. Acha, Greenhall
<i>Artibeus j. jamaicensis</i>	Panamá, Trinidad	Matheney, Gale, Greenhall
<i>Carollia perspicillata</i>	Trinidad	Greenhall
<i>Glossophaga soricina</i>	México	Villa, Málaga
<i>Leptonycteris nivalis</i>	México	
<i>Uroderma bilobatum</i>	Panamá	Matheney, Gale
Ictiófagos		
<i>Noctilio leporinus</i>	México	Villa

Ecología y mastozología

Los estudios paleontológicos demuestran que hace 60 millones de años ya existían murciélagos. En el eoceno inferior se han encontrado esqueletos completos, inclusive con sus patagios, que permiten reconocerlos como verdaderos murciélagos. Los murciélagos fósiles del eoceno medio, pertenecen por lo menos a tres familias de murciélagos actuales, entre ellos los Molósidos. Por la naturaleza de algunas de sus estructuras anatómicas, los quirópteros se pueden considerar como mamíferos muy primitivos; sin embargo, la estructura de sus alas y otras características anatómicas, señalan un alto grado de especialización, así como el mecanismo de eco localización (sonar) y la facultad de invernar.

Los murciélagos se agrupan en dos grandes subdivisiones: los megaquirópteros, llamados murciélagos frugívoros, y los microquirópteros que no se alimentan de frutas. Esos grupos se diferencian por sus características dentarias, el dedo índice y otras peculiaridades. Los megaquirópteros son los grandes murciélagos del Viejo Mundo. Se extienden desde Africa y Asia Menor hasta Australia y las Filipinas. Los microquirópteros se encuentran en todas partes del mundo. El orden de los quirópteros comprende 19 familias y aproximadamente 189 géneros con 1.281 especies vivientes, número que ascendería a 2.000 si se consideran las distintas subespecies, debiendo tenerse presente que todavía existen muchas especies sin clasificar.

En diferentes textos de mastozología y otras publicaciones cien-

tíficas, se pueden encontrar estudios taxonómicos y de distribución de los murciélagos, pero, en realidad, todavía queda mucho por hacer, principalmente en lo que se refiere a las poblaciones de las diferentes especies de murciélagos y sus respectivas densidades. Se sabe que los murciélagos son animales tropicales que se han adaptado a los climas templados reduciendo su metabolismo en el llamado fenómeno de invernación o se salvan de los grandes fríos gracias a grandes migraciones o desplazamientos estacionales a regiones más abrigadas en zonas más bajas. De estos murciélagos se sabe relativamente más que de los de las regiones tropicales, de los cuales no se conoce ni su verdadera distribución geográfica, ni la forma como se integran sus poblaciones, ni los factores que determinan el aumento o disminución de población que se observa frecuentemente. Estos y otros factores ecológicos tienen especial relación con la propagación y perpetuación de la rabia.

Uno de los aspectos de la fisiología de los murciélagos que guarda relación con la rabia es la reproducción. Aunque el conocimiento que se tiene de ella es deficiente en comparación con el de otros mamíferos, se puede destacar, por ejemplo, la periodicidad de la reproducción. La mayoría de los murciélagos sólo tiene cría una vez al año, en la primavera o en el otoño, y todo parece indicar que sólo tienen una estación de celo; en cambio, algunos murciélagos de la zona tropical como *Desmodus rotundus* y *Carollia* se reproducen todo el año. Felizmente, el vampiro común tiene un período prolongado de gestación, poco común para animales tan pequeños, y sólo tiene una cría.

Otro aspecto fisiológico importante es su longevidad. Los murciélagos parecen ser los únicos mamíferos que pueden regular su temperatura y metabolismo de acuerdo con la temperatura ambiente en todo tiempo y en todas las estaciones del año, pudiendo alcanzar los 45°C. Esto puede explicar la sorprendente longevidad de esos animales en relación con su tamaño; a este respecto puede considerarse que los murciélagos tienen mecanismos eficaces para la conservación de la energía. Acerca de la orientación acústica de los murciélagos y el uso de sus dispositivos de sonar, no sólo para evitar obstáculos sino también para descubrir alimentos, el Dr. Griffin ha puesto de relieve que los estudios electrofisiológicos de cerebros de murciélagos confirman la hipertrofia de las zonas acústicas del sistema nervioso central. Como se sabe, los murciélagos también utilizan el eco para localizar a los insectos nocturnos en el vuelo.

Prácticamente no se conocen estudios modernos sobre la anatomía y la histofisiología de las glándulas salivales de los murciélagos. Se sabe que, conforme a los diferentes hábitos alimentarios, sus glándulas presentan variaciones morfológicas y funcionales; pero todavía hay mucho que estudiar en relación con la inervación de las glándulas salivales, en lo que se refiere a la propagación de la rabia.

Otro punto interesante de la fisiología de este animal es el de la glándula interescapular sobre la cual se ha acumulado, en los últimos años, suficiente información como para indicar que tiene ac-

ción sobre el metabolismo y que en ella pueden proliferar varios virus, entre ellos el de la rabia.

Virología

a) *Cepas del virus rábico*. Habel ha indicado que las relaciones del virus de la rabia con el murciélago deben ser únicas, y si bien esto es cierto, se sabe que, como en el caso de las cepas aisladas de cualquier especie, puede haber grandes variaciones. En general, se observan variaciones en la capacidad de formación de corpúsculos de Negri, virulencia y poder invasor, pero debemos convenir en que estas características están determinadas por la dosis y la adaptación del virus tanto al tejido como a la especie. Los títulos de las cepas de virus aislados de murciélagos vampiros (*Desmodus*) y de diversos murciélagos insectívoros son relativamente bajos en comparación con los títulos que se obtienen en las cepas procedentes de perros y otros carnívoros.

Las cepas de virus rábico aisladas de murciélagos hematófagos, seres humanos y ganado infectado por vampiros rabiosos, han resultado ser antigénicamente idénticas a todas las cepas conocidas del virus rábico. El virus aislado de los murciélagos es neutralizado como suero antirrábico estándar, y los antígenos preparados con cepas aisladas de vampiros en pruebas de inmunidad cruzada, han dado protección a animales de laboratorio y a ganado expuesto en forma experimental o natural.

Algunos investigadores como Kubes y Gallia, Briceño Rossi (Venezuela), Tellez Girón y Camargo (México) y Muñoz Dávila (Ecuador) han señalado estas pequeñas diferencias cuantitativas en las pruebas de inmunidad cruzada, y hablan de pluralidad del virus rábico; pero estas conclusiones no pueden considerarse válidas, dada la forma limitada como se han llevado a cabo dichas experiencias y por las razones expuestas.

b) *Patogenia de la rabia en murciélagos vampiros*. Como en el caso de la rabia canina, el virus se introduce por la herida producida por una mordedura. Con frecuencia se capturan vampiros mordidos en las orejas y es común que se muerdan los unos a los otros, llegando a atravesar el cráneo. Esta lesión mata a muchos, pero otros sobreviven y, sin duda, se infectan intracranealmente. También se ha observado la mordedura a través de cráneo en *Artibeus* y *Phyllostomus hastatus*.

Se ha aislado virus del cerebro nueve días después de la inoculación subcutánea, y en la saliva siete días después. Los murciélagos vampiros expuestos natural y experimentalmente han podido albergar el virus e infectar terneras y animales de laboratorio durante cinco meses y medio (Pawan) y siete meses (Silvio Torres). Según otras experiencias, el período de incubación en vampiros infectados, en forma tanto experimental como natural, guarda una estrecha relación con la observación de Pawan; un período mínimo de nueve días

y un máximo de 38 con un promedio de 25 días. Pawan ha registrado un período de incubación prolongado de 171 días y un período extraordinariamente corto de tres días.

El período medio de incubación en los vampiros es de 9 a 14 días y en el cobayo de 20 a 21. Pawan informó sobre una cepa poco común de rabia de vampiro capaz de producir la muerte en los conejos en el breve período de dos días; el período común de incubación para el conejo es de 12 a 30 días. El Cuadro II muestra diferentes períodos de incubación en el ganado vacuno, cabras y murciélagos en los que se ha provocado experimentalmente la enfermedad. Es de notar que el período de incubación guarda estrecha relación con la vía de inoculación y la dosis infectante.

CUADRO II — Períodos de incubación de rabia de animales artificialmente expuestos

Autor	País y año	Especies	Lugar de inoculación	Período de incubación en días
Blanc de Freitas	Brasil, 1929	<i>Phyllostomidae</i>	IM ^a	3-4
Haupt y Rehaag	Brasil, 1921	Ternera de 8 días de edad	Mordedura de murciélago	27
Torres y Queiroz L.	Brasil, 1935	<i>D. rotundus</i>	IM	25-154
Pawan	Trinidad, 1936	<i>D. rotundus</i>	IM	25
Pawan	Trinidad, 1936	<i>Artibeus trin.</i>	Mordedura de murciélago	130
Torres y Queiroz L.	Brasil	Bovinos	IM	20-165
Gallo e Iturbe	Venezuela, 1939	Bovinos	IC ^b	25-154
Kubes y Gallia	Venezuela, 1942	Bovinos	IC	8-10
Novicky	Venezuela, 1946	Bovinos y cabras	IC	5-6
Rivera	Costa Rica, 1952	Bovinos	Endoneural	8-18
			Mucosas	9-22
			ID ^c	11-22
			SC ^d	14-32
			IC	39
Nikolitch	Yugoeslavia, 1954	<i>Nyctalus noctula</i>	IC	8-18
			Endoneural	9-22
			Mucosas	11-22
			ID	14-32
			SC	39
Hidiroglou	Cayena Guayana Francesa	Terneros	Mordedura de <i>Desmodus</i>	9
			SC	17
Málaga Acha	México, 1958 Guatemala, 1961	<i>Desmodus</i>	IM	202
			IM	9-38
			IC	12-25
			IC	8-11

^a Intramuscular.

^b Intracraneal.

^c Intradérmica.

^d Subcutánea.

El ganado vacuno es más susceptible a la rabia que el caprino, en tanto que los caballos y los cerdos no son tan susceptibles. Los perros muestran un alto grado de resistencia y rara vez son mordidos. Los seres humanos, al parecer también son muy resistentes. La enfermedad varía considerablemente en los murciélagos; pero, en general, se puede decir que el período prodrómico puede durar desde varias horas hasta un día, y que se caracteriza por intranquilidad, irritabilidad, temblores, anorexia y apatía; el vampiro lame la sangre, pero si está excitado, muerde la piel, y puede tener accesos de excitabilidad y furia. El período de furia dura de uno a cinco días; el animal puede recuperarse y la enfermedad evolucionar hacia la parálisis y la muerte.

Los murciélagos enfermos de rabia tienen dificultad para volar y están afectados de parálisis de los músculos de la mandíbula inferior y del cuello, incapacidad para levantar la cabeza y parálisis de los músculos alares, por lo que tratan de impulsarse con los miembros que no están afectados o permanecen suspendidos en sus jaulas; algunos presentan contracciones musculares de las extremidades y el tronco, y la incontinencia de la orina es notable. El período paralítico dura de uno a cuatro días, y por lo general termina con la muerte. La enfermedad puede resolverse en un período de uno a tres días. Pawan ha observado en *Desmodus rotundus* que los casos furiosos pueden terminar por: 1) parálisis y muerte; 2) curación; y 3) muerte. Los casos en que hay parálisis pero no furia terminan por muerte. Pawan menciona otras dos formas: una en la que hay muerte súbita, y formas subclínicas asintomáticas.

Algunos murciélagos hacen una infección leve o latente con recuperación y paso a una fase de portador. Los murciélagos afectados de esta manera pueden vivir un tiempo considerable (7 meses) y en algunas ocasiones sufrir ataques convulsivos con espasmos clónicos, pérdida de la conciencia, y recuperarse finalmente. Otros murciélagos vampiros muy resistentes a la infección no presentan síntomas clínicos, pero son capaces de transmitir la infección. Esta resistencia poco común puede explicarse como adquirida antes de nacer o consecutivamente a la recuperación de la enfermedad, como parecería indicarlo la presencia de anticuerpos neutralizantes.

La presencia del virus rábico en las glándulas mamarias de murciélagos insectívoros y en el cerebro del recién nacido puede indicar otra forma de escape y perpetuación del virus en el huésped natural. El recién nacido así infectado podría tener una infección inaparente o silenciosa y, según las opiniones de Johnson, así se podría perpetuar la rabia en la población de murciélagos, mientras que la vía intracraneal podría originar los brotes epizooticos y la alta mortalidad que a menudo se observa en vampiros y otros murciélagos.

Las lesiones observadas en el cerebro de murciélagos vampiros infectados naturalmente son las de la encefalitis aguda, con la presencia característica de los corpúsculos de Negri; pero frecuente-

mente se observan inclusiones y lesiones similares a las que produce el virus fijo. Pawan encontró corpúsculos de Negri en el 14,4% de los murciélagos vampiros que anidaban en una cueva, pero el porcentaje observado en una zona infectada, en la que se habían registrado casos de rabia en el ganado y en seres humanos, no fue superior al 9,4% en un total de 565 vampiros examinados, mientras que, en una zona limítrofe no infectada, sólo se encontró infectado el 1,9% en una muestra de 200 vampiros.

El porcentaje de infección en los murciélagos, como vemos, puede estar relacionado con el estado epidémico de la enfermedad en el animal. La forma como se lleva a cabo el aislamiento, ya sea a partir de una mezcla de varios cerebros o de muestras individuales, también puede influir en los resultados. Así Tierkel señala que el porcentaje de aislamiento en muestras de *Tadarida brasiliensis mexicana* procedente de las cuevas de Carlsbad, Nuevo México, Estados Unidos, variaban de 0,5 a 4% cuando los ratones se inocularon con mezclas de cinco cerebros de murciélagos normales capturados en vuelo, en comparación con 8,7% en las muestras de murciélagos enfermos o moribundos, inclusive muertos, recogidos en las cuevas. En cambio, cuando las inoculaciones se hicieron con el cerebro de cada murciélago por separado, los porcentajes subieron al 14% en los normales y hasta el 70% en los murciélagos de colonias infectadas. Esto puede obedecer al factor de dilución o, como ha señalado Habel, a la presencia de anticuerpos neutralizantes en la sangre que puede bañar el cerebro de los murciélagos.

Otro aspecto importante de la patogenia del virus rábico está relacionado con los efectos de invernación. Sulkin, trabajando con *Tadarida*, un murciélago que no inverte y que, relativamente, no es susceptible a la rabia, encontró que se podía aislar el virus rábico entre 26 y 30 días después de la inoculación intramuscular; que el índice de infección era del orden del 20%; y que en los murciélagos infectados por vía intramuscular el porcentaje de aislamiento del virus variaba en los diferentes órganos: mientras que en la glándula interescapular era de 22 %, en la glándula salival era de 30 % y en el cerebro de 91%. Esos resultados cambiaron cuando se repitió la experiencia en *Myotis lucifugus*, un murciélago que sí inverna, en el que se pudo aislar el virus en el 30% de las glándulas interescapulares, en comparación con 22% en *Tadarida*. Además, el porcentaje de aislamientos fue mayor en la glándula interescapular que en las glándulas salivales. Un hecho interesante es que el virus aislado de la glándula interescapular o de la glándula salival tenía un título de uno o dos logaritmos menor que el título del inóculo. Estas y otras investigaciones indican claramente que la hibernación retarda la multiplicación del virus en los murciélagos. Por eso se considera que la temperatura ambiente podría tener efecto sobre la proliferación del virus, lo que no parece ocurrir en otras virosis. Por ejemplo: los animales son más susceptibles en el frío al virus Coxsackie y la influenza.

En cambio, la preñez parece no tener acción significativa sobre el índice de infección en el murciélago, pero hay pruebas de transmisión transplacentaria. El virus se ha aislado del feto después de infectar a la madre por inoculación. Así mismo, se encontró el virus en las crías recién nacidas de tres hembras aparentemente sanas que fueron sacrificadas 8 y 11 días después de la inoculación en la glándula mamaria de dos murciélagos infectados.

Enzootiología

Distribución de la rabia. Las epizootias de rabia en el ganado bovino producidas por la mordedura de murciélagos rabiosos sólo se presentan en el Continente americano y en el área de distribución geográfica de los quirópteros hematófagos. No se han comprobado casos en Chile, Uruguay y Perú, ni en las islas del Caribe y del Atlántico Sur, con la única excepción de la Isla de Trinidad.

Las zonas donde existe corresponden a diversas regiones naturales que varían desde la selva subtropical y tropical hasta las zonas semidesérticas y los cañones y quebradas abrigadas de las sierras; en las montañas más altas y en los altiplanos no se han registrado casos. La enfermedad aparece únicamente en elevaciones de hasta 1800-2000 metros, entre el paralelo 33° de latitud sur y el paralelo 28° de latitud norte (Cuadros III y IV), siendo el factor determinante la temperatura media de invierno que no debe bajar de los 15°C.

CUADRO III -- RABIA PARALITICA BOVINA EN LAS AMERICAS

País	Año en que la enfermedad fue notificada y autor	Número de casos por año (varios informes)	Mortalidad estimada anual	Nº de bovinos vacunados por año
Argentina	1928. Acosta, J., Quiroga, S.	18.000 (1964)	50.000	100.000 (1965)
Brasil	1911. Carini, A., Rehaag, H.	32.200 (1965)	200.000	1.300.000 (1965)
Bolivia	1936. Selles, Alvarado de	20.000 (1965)	50.000	5.000 (1965)
Belice	1961. Acha, Pedro N.	815 (1962)	2.000	200 (1965)
Cayena (G.F.)	1955. Hidiroglou, M.	600 (1958)	1.000	
Costa Rica	1952. Rivera, E.	132 (1964)	10.000	18.000 (1963)
Colombia	1931. Missas, S. Willis	5.300 (1964)	50.000	150.000 (1963)
Ecuador	1947. Coba, T., Oliva, G.	930 (1962)	5.000	4.500 (1962)
El Salvador	1950. Sandoval, M.	1.080 (1961)	3.000	7.000 (1964)
Guatemala	1951. Rodas, F., Montemagno, F.	1.120 (1964)	12.000	8.000 (1964)
Guayana	1923. Torres, Silvio	2.000 (1957)	3.000	30.000 (1963)
Honduras	1949. González, F.	348 (1960)	6.000	5.000 (1963)
México	1932. Téllez Girón	1.502 (1963)	90.000	1.000.000 (1963)
Nicaragua	1951. Málaga Alba	831 (1962)	10.000	8.000 (1964)
Panamá	1957. Medina, G.	218 (1962)	8.000	5.000 (1963)
Paraguay	1913. Aranda, S.	320 (1963)	5.000	2.000 (1964)
Surinam	1953. Langeler, E., Collier, W.	733 (1963)	2.000	5.013 (1963)
Trinidad	1925. Pawan, J. L.	2 (1965)	500	24.047 (1963)
Venezuela	1938. Gallo, P.	215 (1965)	5.000	53.032 (1963)
Total		86.346	512.500	2.724.792

CUADRO IV. — Estimado de las pérdidas económicas que causa la rabia paralítica en las Américas

País	Año	Pérdidas anuales en EUA\$ ^a
Argentina	1964	10.000.000
Brasil	1965-66	22.000.000
Bolivia	1965	1.500.000
Belice	1961	100.000
Cayena (G.F.)	1958	60.000
Costa Rica	1962	365.000
Colombia	1964	1.260.000
Ecuador	1963	850.000
El Salvador	1961	108.000
Guatemala	1964	168.000
Guayana	1959	43.000
Honduras	1960	87.000
México	1964	10.400.000
Nicaragua	1962	200.000
Panamá	1962	115.000
Paraguay	1963	94.000
Surinam	1963	55.000
Trinidad	1961	5.000
Venezuela	1960	119.000
Total		47.529.000

^a Calculado de acuerdo al cambio oficial de moneda local vigente en el año notificado.

La información sobre la distribución de la rabia en los murciélagos en el resto del mundo es muy limitada. En los últimos años se ha comprobado la presencia de rabia en murciélagos insectívoros en los Estados Unidos, Canadá, Yugoslavia, Turquía y, recientemente, en Tailandia (Cuadros I y II). En Alemania y la India se han registrado incidentes sospechosos sin llegarse a la confirmación de los mismos. En el Cuadro I se ha tratado de incluir todos los datos disponibles sobre la comprobación de rabia en murciélagos en el Continente americano, pero esta información es incompleta al no tenerse cifras sobre incidencia, número de murciélagos examinados ni las características de los virus aislados de las diferentes especies.

Transmisión. Los experimentos realizados por Silvio Torres y Queiroz Lima en Brasil muestran claramente la forma como los vampiros transmiten la rabia al ganado. A *Desmodus rotundus* capturados en una zona donde se desarrollaba un brote epizootico se les permitió alimentarse en vacas en las que se presentó la enfermedad después de un período de incubación que fluctuó entre 25 y 154 días.

Todos los autores han confirmado el papel que desempeñan los vampiros en la transmisión de la rabia. La mayor población de *Desmodus rotundus* en relación con las otras especies hematófagas induce a considerar al llamado vampiro común como el vector principal en la transmisión de la rabia a los bovinos, y es razonable suponer

que, al infectar al hombre y al ganado, también podría ponerse en contacto en su propio habitat con otras especies de quirópteros y producir en ellos brotes de rabia, si es que en la naturaleza, también, no sucede lo contrario.

¿Cómo se transmite la enfermedad al ganado? En general, podemos decir que los murciélagos pueden morder e infectar normalmente al ganado, produciendo casos esporádicos; pero los brotes epizooticos en una región son el resultado de la infección general de las colonias de vampiros en una localidad, y cuando esto sucede, se puede ver a los murciélagos rabiosos, en la fase excitativa de la enfermedad, atacando furiosamente, aún de día. Normalmente, los vampiros se posan suavemente y caminan sobre el lomo del animal y muerden en la superficie dorsal de la oreja, en el cuello, la paleta, la base del rabo y, excepcionalmente, en el lomo. La sangre corre libremente de la herida, y los murciélagos la lamen ávidamente, ingiriendo cantidades que en cautiverio alcanzan a 25-35 ml. de sangre. La sangre, al coagularse, forma una costra redondeada de 3-4 mm. que es característica y que corresponde al tamaño y forma de la mordedura. En algunas ocasiones se ha observado que la herida está situada encima de un capilar. La herida misma, la saliva, y el prolongado contacto y las repetidas mordeduras determinan condiciones ideales para la transmisión de la rabia. No cabe duda de que es la forma de la alimentación la que determina el contacto obligado y la infección simultánea de un alto porcentaje de animales en un hato o rebaño; en cambio, en las zonas templadas de Estados Unidos, donde se ha comprobado la infección de millares de murciélagos insectívoros, no se presentan brotes de rabia en los animales domésticos, y sólo ocurren raros casos en el hombre. En la naturaleza no se han podido comprobar casos de rabia en carnívoros silvestres o domésticos transmitidos por mordeduras de murciélago hematófago o insectívoro; aún experimentalmente esto ha sido difícil. Sin embargo, Constantine (1966) logró infectar zorros y coyotes. Estos animales fueron sometidos a un centenar de mordeduras en la mucosa de la boca y la nariz por el murciélago guanero *Tadarida m. brasiliensis* durante un período de 12 días. Los síntomas de rabia se presentaron 15 días después de la primera mordedura, y no se pudo comprobar la presencia de virus en las glándulas salivales de ninguna de las dos especies.

En los Estados Unidos, dos de los cinco casos de rabia transmitida por murciélagos a seres humanos se presentaron sin que se pudiera determinar mordedura de murciélago. Las víctimas habían estado algunas horas en una cueva en la que habitaban millones de murciélagos. Estos casos determinaron un experimento en el que coyotes y zorros se infectaron al estar encerrados durante una semana o más en las cuevas Frío, en el Estado de Nuevo México. Los animales estuvieron expuestos en jaulas donde no podían entrar artrópodos ni murciélagos, de tal forma que la infección sólo se pudo producir por vía aérea. (Constantine, 1962).

La transmisión de la rabia del murciélago por aerosoles señala la posibilidad de una nueva forma para la perpetuación de la rabia en el murciélago y una nueva vía de transmisión para los otros animales con los cuales entra en contacto directo. Conviene señalar que es necesario conocer mejor la epizootiología de la rabia de los murciélagos; se requiere obtener mayor información sobre todas las formas de transmisión, es decir, saber cómo se produce la infección de murciélago a murciélago (de la misma o de otra especie) y de los murciélagos a otros animales o viceversa. Sería de suma utilidad el estudio de la infección inaparente o formas crónicas de la rabia en los murciélagos. No obstante los trabajos de Bell en *Ixodes* y *Argasidos*, todavía se deben proseguir las investigaciones para eliminar definitivamente la posibilidad de que los ectoparásitos puedan constituir reservorios o servir de vectores.

Reservorios. Cuando hablamos de infección, siempre se opone el concepto enfermedad al de infección. Johnson ha dicho que la rabia es una enfermedad de los perros, pero que no existe la infección natural en los perros. Las especies de caninos o perros silvestres cuando se infectan pueden mantener la rabia por un período pero, al reducir el número de susceptibles, ésta acaba por extinguirse. Cuando se busca la infección en su estado natural, se debe tener presente la distribución mundial de la rabia, enfermedad que se presenta bajo formas muy variadas en las distintas partes del mundo. En América del Norte y del Sur, en Siberia, la Unión Sudafricana, la India, los huéspedes son diferentes. Si se considera a todos estos animales en su conjunto, sólo se puede llegar a una conclusión, y ésta es que debe existir un común denominador, y que éste puede estar constituido por los mustélidos o los vivérridos. Johnson cree que éstos son los huéspedes silvestres, y diversos hechos parecen confirmar esa opinión. Animales como la comadreja, el zorrino manchado, la marta, el visón, etc., son animales nocturnos muy esquivos que trepan con rapidez y pueden cazar en túneles o trepando sobre bordes salientes. En los Estados Unidos podría ser el pequeño zorrino manchado, ya que el zorrino rayado común no es trepador. Es lógico suponer que estos animales pueden alimentarse con facilidad de murciélagos, especialmente de los que se albergan en los árboles. No cabe duda de que éstos son los animales cuyos hábitos y relaciones ecológicas debemos estudiar en relación con la historia natural de la rabia.

Sintomatología de la rabia en los bovinos. La fase prodrómica en los bovinos casi siempre pasa desapercibida y sólo dura unas cuantas horas. Los animales afectados cambian sus hábitos normales, se alejan del grupo, algunos se muestran atemorizados, con las orejas levantadas, las pupilas dilatadas, y el pelo erizado o pueden presentar somnolencia y depresión. Se observan movimientos anormales de las extremidades posteriores, lagrimeo, catarro y algunas veces sialorrea. A veces los síntomas de excitación se presentan en forma marcada,

rascan el suelo con las pezuñas, se pueden observar temblores musculares, agresividad, inquietud, aumento del apetito sexual, y priapismo, y, en raros casos, muestran accesos de furia. Málaga Alba indica que hay hipersensibilidad probablemente en el lugar de la mordedura del vampiro; el animal se rasca a veces hasta ulcerar la piel de la tabla del cuello, la paleta, las costillas, y las patas. Carini y Rivera señalan que hay prurito y dolor en estas zonas.

Al avanzar la enfermedad, se observan trastornos en la locomoción. Los animales marchan lentamente con pasos vacilantes e incoordinados, tropezando con las patas traseras. Algunos arrastran las pezuñas y presentan contracciones tónicoclónicas de grupos musculares del pescuezo, el tronco y las extremidades. Se observa estreñimiento y oliguria. La piel indica el estado de deshidratación, y la pelambre está erizada y sin lustre.

Los animales tienen dificultades para tragar y dejan de rumiar. Al avanzar los síntomas paralíticos, caen o se echan, y aunque tratan de levantarse, permanecen reclinados en una posición esterno-abdominal o, si alguien trata de ponerlos en pie, caen con la cabeza y el pescuezo extendidos, y se quedan en decúbito costal. Cuando los animales oyen un ruido súbito, se producen movimientos de pataleo y algunas veces contracciones tónicoclónicas de breve duración.

A la parálisis motriz, que en un pequeño porcentaje se inicia en las patas delanteras, sigue una parálisis flácida. El estreñimiento aumenta, y el animal hace esfuerzos inútiles por defecar. Las materias fecales son espesas, secas y están cubiertas con materia mucosa y sangre. La emaciación es notable, los ojos están hundidos, el hocico se cubre con una baba amarillenta y espumosa. Sobrevienen convulsiones que preceden a la muerte.

En la rabia transmitida por murciélagos generalmente predominan los síntomas paralíticos, los que frecuentemente se presentan desde el comienzo de la enfermedad; pero en ningún caso el cuadro de síntomas es uniforme, ni siempre se pueden ver todas las fases de la enfermedad. Los signos paralíticos suelen presentarse entre el segundo y el tercer día, y la duración de la enfermedad es de 2 a 5 días, llegando en raras ocasiones a 8 y 10 días.

Diagnóstico diferencial. En un principio se confundió la rabia paralítica con la peste bovina, la enfermedad de Aujeszky, intoxicación por hongos, afecciones carenciales, listeriosis y ha sido confundida con piroplasmosis y anaplasmosis, la parálisis producida por garrapatas, encefalomiелitis, etc.

Los datos epidemiológicos, la presencia de murciélagos hematófagos, el hallazgo de mordeduras en el ganado, la ocurrencia de múltiples casos de rabia en bovinos, la casi ausencia de casos de rabia en perros, y una preponderancia de las manifestaciones paralíticas, llevan a establecer el diagnóstico de rabia transmitida por murciélagos.

En realidad, cuando se presentan casos esporádicos en una localidad es casi imposible establecer clínicamente si se trata de rabia

de murciélagos o de rabia canina. El predominio de síntomas paráliticos no asegura el diagnóstico, pues se observan casos de excitación y accesos de furia. Así mismo, con frecuencia se observan manifestaciones paráliticas en los bovinos afectados por mordeduras de perros rabiosos. El diagnóstico sólo lo puede establecer el estudio epidemiológico y la comprobación de la rabia en los murciélagos. La enfermedad de Aujeszky se puede diferenciar por la intensidad y continuidad del prurito, por el corto período de incubación, y la evolución rápida.

El diagnóstico debe verificarse en el laboratorio mediante el examen microscópico de improntas de cerebelo o de cortes de tejido cerebral teñidos por los métodos de Sellers, Mann y Faracco, que permiten identificar los corpúsculos de Negri. En el caso de murciélagos, se debe intentar el aislamiento del virus y luego su identificación por la prueba de seroneutralización. En la ausencia de corpúsculos de Negri hay necesidad de recurrir a las pruebas biológicas y de preferencia a la coloración con anticuerpos fluorescentes. La inoculación en ratones, cobayos o conejos por vía intracerebral con suspensiones de tejido nervioso o de glándulas salivales de los animales sospechosos generalmente permite aislar el virus después de un período de incubación generalmente mayor que el de las cepas de origen canino. En el cobayo, el período de incubación varía de 16 a 17 días, y en los ratones de 11 a 12 días. En el caso de cerebro de murciélago se recomienda utilizar para la inoculación ratones lactantes.

Las pruebas serológicas no permiten diferenciar el origen del virus o la especie infectante porque las pruebas de seroneutralización y de cerebro-neutralización o la de protección cruzada no son definitivas.

Necesidad de control. Un estado de vigilancia permanente en Estados Unidos ha puesto de manifiesto el alto grado de difusión que puede alcanzar la rabia en los murciélagos, y las cinco defunciones producidas por mordeduras de murciélagos insectívoros han alertado sobre el peligro a los países de las zonas templadas que se creían libres de esta amenaza. Es así como pronto se han confirmado casos de rabia en murciélagos en Europa y Asia (Cuadro V).

CUADRO V
Rabia en murciélagos en varias regiones del mundo
sin incluir las Américas

País	Especie de murciélago	Años	Autor
Yugoeslavia	<i>Nyctalus noctula</i>	1954	Nikolitch, M.
Alemania Occidental	<i>Nyctalus vesperugo?</i>	1955	Kaplan, M. M.
India	?	1955	Kaplan, M. M.
Turquía	<i>Rhinolophus ferrum equinum</i>	1958	Tunçman, Z. M.
Tailandia	<i>Cynopterus brachyotis</i>	1967 ^a	

^a Descrito en CDC Veterinary Public Health Notes, julio de 1967.

En el año 1960 se registraron en América 22 defunciones por mordeduras de murciélagos rabiosos, y aunque en los últimos 5 años no se han presentado nuevos casos humanos en Estados Unidos, si han ocurrido defunciones en México y la Argentina. La realidad del problema de salud pública (Cuadro VI) ha hecho imperativo el inmediato tratamiento preventivo de las personas mordidas sin provocación por murciélagos con suero antirrábico y vacuna.

A esta amenaza se deben agregar los perjuicios que directa e indirectamente ocasiona la rabia de los murciélagos al hombre y que de acuerdo con los Cuadros III y IV, alcanza a más de medio millón de cabezas de ganado vacuno, con un valor estimado de 47 millones y medio de dólares.

CUADRO VI

Casos de rabia humana causados por mordeduras de murciélagos infectados

País	Años	Casos	Lugar	Notificado por
E.U.A.	1951 - 1959	5	Texas, California, Wisconsin	Servicio de Salud Pública
México	1951 - 1961	30	Costa del Pacífico	Málaga Alba, A.
Trinidad	1925 - 1938	89	Varias partes de la Isla	Pawan, J. L.
Guayana	1953 - 1951	17	Ríos Kurupung y Aruka	Nehaul, B. B. G.
Brasil	1960	8	Guanabara (Río de Janeiro)	Barone Forzano, A.
Bolivia	1960	1	Monteagudo, Chuquisaca	Ramírez, J. L.
Argentina	1965	5	Jujuy	Blaksley, J., Atanasiu, P.

Estas cifras no pueden menos de sorprender pues, en verdad, sobrepasan en número a los casos registrados de rabia canina, enfermedad que ha alcanzado notoriedad por su difusión en las Américas. Los recientes brotes de rabia transmitida por murciélagos en México, Colombia, Brasil, Bolivia y Argentina han reactualizado la importancia del problema y sorprende el hecho de que los gobiernos de los países afectados no reciben mayor presión de los sectores ganaderos para que se logre un control efectivo. Parecería que la epidemiología de la enfermedad militara en contra, pues aunque la mortalidad llega a diezmar la población bovina de una y otra localidad, la mortalidad general en todo el país es relativamente baja. Estas circunstancias, sin duda, contribuyen a que se descuide un problema que mantiene estacionario el desarrollo de la ganadería en grandes extensiones de ricas tierras de pastales que deben abrirse a la producción antes de que el hambre de carne se convierta en una amenaza para el porvenir de América.

BIBLIOGRAFIA SELECCIONADA DE RABIA PARALÍTICA EN BOVINOS
Y RABIA EN MURCIELAGOS

Acha, P. N. Estudios de rabia silvestre en Centro América. I. - Epidemiología. *Anales del IV Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria*, México, Noviembre 1962.

Acha, P. N. Estudios de rabia silvestre en Centro América. II. - Investigaciones de laboratorio. *Anales del I Congreso de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Centro América y Panamá*, Agosto 1964.

Acha, P. N. Rabies in the Americas. *Proceedings, National Rabies Symposium*. N.C.D.C. - U.S.P.H.S., Atlanta, Ga., May 5-6, 1966.

Acha, P. N. Epidemiology of paralytic bovine rabies and bat rabies. *Bull. Off. int. Epiz.*, 67: 343-382, 1967.

Acha, P. N. & Zapatel, J. Estudio en quirópteros de la región de San Martín (Perú) como probables reservorios de rabia. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 42: 211-222, 1957.

Alarcón, N. F. La rabia en los murciélagos. Un nuevo capítulo en la epidemiología de la rabia. *Bol. Epid., Méx.*, 26: 53-60, 1962.

Allen, H. Notes on the vampire bat (*Diphylla ecaudata*) with special reference to its relationships with *Desmodus rufus*. *Proc. U.S. Nat. Mus.*, Vol. 18, p. 769, 1895.

Allen, G. M. Bats. *Museum of Comparative Zoology*. Harvard University, Harvard University Press, 54, p. 368, 1939.

Alvarez, M. & Townsend, G. Contribución al estudio de la rabia en Chile 1950-1960. *IV Congr. Med. Vet.*, Santiago, p. 168-171, 1961.

Alston, E. R. "Zoología". Tomo 1º, *Biología Central-Americana*. Taylor and Francis, Red. Lion Court, Fleet St., London, England, 1879-1882.

Argentina. Division of Animal Husbandry of the Ministry of Agriculture of the Argentine Republic. La lucha contra la rabia paralítica bovina (The fight against paralytic bovine rabies). *2nd. Inter-Amer. Conf. on Agric.*, México, 1942.

Avery, R. J. & Tailyour, J. M. The isolation of the rabies virus from insectivorous bats in British Columbia. *Canad. J. comp. Med.*, 24: 143-146, 1960.

Baer, G. M. & Bales, G. L. Experimental rabies infection in the Mexican free tail bat. *J. inf. Dis.*, 117: 82, 1967.

Baer, G. M. & Woodall, D. F. Bat salivary gland virus carrier state in a naturally infected Mexican free tail bat. *Amer. J. trop. Med.*, 15: 769-771, 1966.

Bain, F. M. Annual report of the Department of Agriculture. Trinidad and Tobago, Port of Spain, 1958. (Mimeografiado).

Bat rabies in North Carolina. *Southern Vet.*, 1: 20-21, March 1964.

Bat rabies occurs throughout United States. *J. Amer. med. Ass.*, 180: 189, 1962.

Bat rabies reported in 35 States. *CDC Morb. and Mort. Report*, Vol. 10, p. 2, October 1961.

Beauregard, M. & Stewart, R. C. Bat rabies in Ontario. *Canad. J. comp. Med.*, 23: 43-45, 1964.

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

Bell, J. F., Hadlow, W. J. & Jellison, W. L. A survey of chiropteran rabies in Western Montana. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 72: 16-18, 1957.

Bell, J. F., Lodmell, D. L., Moore, G. J. & Raymond, G. H. Rabies virus isolation from a bat in Montana in midwinter. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 81: 761-762, 1966.

Bell, J. F. & Moore, G. J. Rabies virus isolated from brown fat of naturally infected bats. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 103: 140-142, 1960.

Bell, J. F., Moore, G. J., Raymond, G. H. & Tibbs, C. E. Characteristics of rabies in bats in Montana. *Amer. J. publ. Hlth.*, 52: 1293-1301, 1962.

Bertani, N. Rabia paralítica en el Distrito Roscio del Estado Bolívar. *Bol. Inf. de la Dirección de Sanidad e Industria Animal del M.A.C.*, Venezuela. Año III, N° 31, 1962.

Blanc de Freitas. A raiva e sua prophylaxia pela vacinação. *Rev. Zotech. e Vet.*, 2-3, 1929.

Brasil. Río Grande do Sul. Diretoria da Produção Animal. Relatório, 1964.

Briceño Rossi, A.L. La existencia de la rabia canina y la pluralidad del virus rábico en Venezuela. Estudio general y experimental. *Rev. San. y Asist. Social*, Caracas, 10: 493-598, 1945.

Briceño Rossi, A. L. Rabia: su frecuencia y distribución en Venezuela. Diagnóstico. Erradicación. *Trabajo presentado al VI Congreso de Ciencias Médicas*, Caracas, 1955.

Briceño Rossi, A.L. & Rodríguez, C. Virus rábico en murciélagos no hematófagos. *Rev. Venez. San. y Asist. Social*, 26: 86-89, 1961.

Brueckner, A.L., Reagan, R.L., Delaha, E.C. & Cook, S.R. Natural and experimental rabies in non-sanguivorous bats. *Southwestern Vet.*, Vol. 7, summer 1954.

Burns, K.F. & Farinacci, C.J. Rabies in non-sanguivorous bats of Texas. *J. inf. Dis.*, 97: 211-218, 1955.

Burns, K.F., Farinacci, C.J. & Murnane, T.G. Rabies in insectivorous bats of Texas. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 128: 27, 1956.

Burns, K.F., Farinacci, C.J., Murnane, T.G. & Shelton, D.F. Insectivorous bats naturally infected with rabies in Southwestern United States. *Amer. J. publ. Hlth.*, 46: 1089-1097, 1956.

Burns, K.F., Shelton, D.F. & Grogan, E.W. Bat rabies: experimental host transmission studies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 70: 452-466, 1958.

Bush, D.L. Epizootic bat rabies in Surinam. Effectiveness of a mass field immunization program. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 138: 363-365, 1961.

Butcher, L.V. The present status of paralytic rabies (bat transmitted) in Trinidad. *W.I. Med. J.*, 7: 17-20, 1958.

Cabrera, A. Catálogo de los mamíferos de la América del Sur. Parte I. *Rev. Museo Arg. de Ciencias Naturales*, Tomo IV, N° 1, 1957.

Cabrera, A. & Yepes, J. Mamíferos sudamericanos (Vida, costumbres, descripción). Historia Natural. *EDIAR*, Buenos Aires, Argentina, vol. II, p. 370, 1940.

Camargo, F. The derriengue problem in Mexico. *Proc. 59th Ann. Meeting U.S. Liv-Sanit. Ass.*, p. 313-318, 1955.

Camargo, F., Ramírez Valenzuela, M. & Velásquez, A. Historia del derriengue en México (1881-1950). Soc. Agr. y Ganad. Div. Gen. Inv. Pecuarias. Palo Alto, México, 1951.

Camargo, F., Velásquez, A. & Ramírez Valenzuela, M. Historia del derriengue en México. *Mem. del Congreso Científico Nacional*, México, p. 265-294, 1953.

Carini, A. Sur une grande épizootie de rage. *Ann. Inst. Pasteur*, 25: 843-846, 1911.

Carini, A. Defendendo um diagnostico. *Arq. Biol.*, 161, 1913.

- Carini, A. & Maciel. La pseudo-rage ou paralysie bulbaire infectieuse au Brésil. *Bull. Soc. Path. éxot.*, t. V, 1912.
- Carneiro, V. As epizootias da raiva na America e o papel dos morcegos hematofagos. *Arch. Inst. Biol.*, 7: 273-322, 1936.
- Carneiro, V., Black, J. & Koprowski, H. Rabies in cattle. Immunization of cattle in Brazil against exposure to street virus of vampire bat origin. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 127: 366-369, 1955.
- Casals, J. Reacciones serológicas con virus filtrables. *Ciencias Vet.*, México, 2: 556-575, 1957.
- Cecil, R.L. Text Book of Medicine. Saunders, Philadelphia, 1955.
- Cifuentes, E. Comunicación personal. México, febrero de 1967.
- Clavijo Peralta, M. La rabia; problema social y de salud pública. *IV Congreso Nac. de Med. Vet. y Zootécni.*, Colombia, p. 323-346, 1962.
- Clough, P.N. Rabies in bats. *Ann. int. Med.*, 42: 1330-1334, 1955.
- CDC Veterinary Public Health Notes, July 1967.
- CDC Zoonoses Surveillance. Annual Rabies Summary 1964. Atlanta, Ga., May 1965.
- Conference on Research in Bat Rabies. Proceedings. National Institutes of Health, USDHEW, July 10-11, 1959.
- Constantine, D.G. Bat rabies investigations. *Communicable Disease Center Report.*, 1957.
- Constantine, D.G. An automatic bat-collecting device. *J. Wildl. Manag.*, 22: 17, 1958.
- Constantine, D.G. Rabies transmission by nonbite route. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 77: 287-289, 1962.
- Constantine, D.G. Recent advances in our knowledge of bat rabies. *International Symp. on Rabies*, Talloires, France, 1965, p. 251-254.
- Constantine, D.G. Transmission experiments with bat rabies isolates: responses of certain carnivora to rabies virus isolated from animals infected by nonbite route. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 13-15, 1966.
- Constantine, D.G. Transmission experiments with bat rabies isolates; reactions of certain carnivora, opossums, and bats to intramuscular inoculations of rabies virus isolated from free-tailed bats. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 16-19, 1966.
- Constantine, D.G. Transmission experiments with bat rabies isolates: bite transmission of rabies to foxes and coyote by free-tailed bats. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 20-23, 1966.
- Constantine, D.G. Transmission experiments with bat rabies isolates: reactions of certain carnivora, opossums, rodents and bats to rabies virus of red bat origin when exposed by bat bite or by intramuscular inoculation. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 24-32, 1966.
- Constantine, D.G. & Villa, B. Métodos de lucha contra los vampiros transmisores de la rabia. *Bol. Ofic. sanit. panamer.* 53: 7-12, 1962.
- Constantine, D.G. & Woodall, D.F. Latent infection of Rio Bravo virus in salivary glands of bats. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 79: 1033-1039, 1964.
- Corristan, E.C., La Motte, L.C. Jr. & Smith, D.C. Susceptibility in bats to certain encephalitis viruses. *Federation Proc.*, 15: 584, 1956.
- Courter, R.D. Bat Rabies. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 69: 9-16, 1954.
- Cowan, I.M. Rabies as a possible population control of arctic Canidae. *J. Mammal.*, 30: 396-398, 1949.

Crónica de la OMS. Publicación de la Organización Mundial de la Salud. Vol. 10, N° 8, 1956.

Dalquest, W.W. Records of mammals from the Mexican State of San Luis Potosí. *Occ. Papers Mus. Zool. Louisiana State Univ.*, 23: 1-15, Jul. 10, 1950.

Dalquest, W.W. Natural history of the vampire bats of Eastern México. *Amer. Midl. Nat.*, 53: 79-87, 1955.

Dalquest, W.W. & Hall, E.R. Geographical range of the hairy-legged vampire in Eastern Texas. *Trans. Kansas Acad. Sci.*, 50: 315-317, 1947.

Darwin, C. Voyage dans H.M.S. "Beagle", *J. Research.* (Inst. Nat. Hist. Geogr.), p. 22, 1838.

Davis, D.E. & Wood, J.E. Ecology of foxes and rabies control. *Publ. Hlth. Rep.* (Wash.), 74: 115-118, 1959.

Ditmars, R.L. & Greenhall, A.M. The vampire bat, a presentation of undescribed habits and review of its history. *Smithsonian Inst. Report for 1936*, p. 277-296.

Divo, A., Ledezma, P. & Herrera, L. La rabia en Venezuela. Medidas para su control. *Rev. Vet. Venez., Caracas*, 2(6): 3-68, 1957.

Dodgen, C.L. & Blood, F.R. Energy sources in the bat. *Amer. J. Physiol.*, 137: 151-154, 1956.

Domínguez, R. "El tronchado". El Noroeste de México. *Mazatlán*, 11: 190, 1927.

Ibid. 12: 11, 1927.

Ibid. 13: 5, 1928.

Dunn, H. Experiments in the transmission of *Trypanosoma hippicum* Darling, with the vampire bat *Desmodus rotundus murinus* Wagner, as a vector in Panamá. *J. prev. Med.*, 6: 415, 1932.

Ecological factors connected with the distribution of *Desmodus* bats in northern Argentina. *Zoonosis*, Pan American Zoonoses Center, PAHO/WHO, Vol. 7, N° 3, p. 1-24, septiembre 1965.

Elliot, D.C. The land and sea mammals of Middle America and the West Indies. *Zool. serv.* Vol. IV, Part II, Field Columbian Museum, Chicago, 1904.

Enright, J.B. Bats and their relation to rabies. *Ann. Rev. Microbiol.*, 10: 369-392, 1956.

Enright, J.B. Geographical distribution of bats rabies in the United States, 1953-1960. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 52: 484-488, 1962.

Enright, J.B., Sadler, W.W., Moulton, J.E. & Constantine, D.G. Isolation of rabies virus from insectivorous bat (*Tadarida mexicana*) in California. *Proc. Soc. exp. Biol.* (N.Y.), 89: 94-96, 1955.

Escalona, J. La meningoencefalitis enzoótica de los bovinos (Derriengue) en el Noroeste de México. *Mazatlán*, 7-8, 13, 1932.

Extracts from the Administrative Reports of the Director of Agriculture for the years 1923-1948, Trinidad. *Caribbean Med. J.*, 21: 172-184, 1959.

Fagan, R. Rabies in animals other than dogs. *CDC Bull.*, 9: 10-11, October 1950.

Fawcett, D.W. A comparison of the histological organization and cytochemical reactions of brown and white adipose tissues. *J. Morphol.*, 90: 363-405, 1952.

Fernández, E. Estudio de una enfermedad de los bovinos conocida con el nombre de "derrengado". Sec. de Fomento, México, 1910.

Fernández de Oviedo. Sumario de la natural historia de las Indias. Fondo de Cultura Económica, México, 1950.

- Fletcher, J.M. Paralytic rabies in British Guiana. *State vet J.*, 16: 170-177, 1961.
- Fouad, M.S.A. Investigation on the virus of rabies in the Egyptian bats. *Vet. Med. J.*, 8: 61-66, 1962.
- Gallia, I. Diferencias inmunológicas entre el virus fijo Pasteur y los virus de rabia paralítica venezolana. *Bol. Inst. Inv. Vet.*, Caracas, 3: 371-392, 1946.
- Gallo, P. & Iturbe, J. Primeros estudios sobre la rabia paralítica del ganado en Venezuela. *Rev. Med. vet.* (Caracas), 1: 91-167, 1939.
- Gilyard, R.T. Bat transmitted paralytic rabies. *Cornell vet.*, 35: 195, 1946.
- Girard, K.F., Hitchcock, H.B., Edsall, G. & Mac Cready, R.A. Rabies in bats in Southern New England. *New Engl. J. Med.*, 272: 75-80, 1965.
- Gómez, C., Black, J. & Koprowski, H. Rabies in cattle. III. Comparative studies on vaccination of cattle in Colombia with Flury virus and chloroform-inactivated vaccine. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 127: 360-363, 1955.
- Goodwin, G.G. Mammals of Costa Rica. *Bull. Amer. Museum Nat. Hist.*, Vol. 87, N° 5, 1946.
- Goodwin, G.G. & Greenhall, A.M. A review of the bats of Trinidad and Tobago: descriptions, rabies infection, and ecology. *Bull. Amer. Museum Nat. Hist.*, 122 (3): 187-302, 1961.
- Grasse, P. P. Distribution géographique des chiroptères. *Traité de zoologie*. Tome XVII, Mammifères, p. 1834, 1955.
- Greenhall, A.M. Use of mist nets and strychnine for vampire control in Trinidad. *J. Mammal.*, 44: 396-399, 1963.
- Greenhal, A.M. Bats: their public health importance and control with reference to Trinidad. *Proc. Second Vertebrate Pest Control Conference*. Univ. of California, Davis, p. 108-116, 1964.
- Greenhall, A.M. Notes on behavior of captive vampire bats. *Mammalia*, 29: 441-451, 1965.
- Grimes, J.E., Eads, R.B. & Irons, J.V. An additional species of insectivorous bat naturally infected with rabies. *Amer. J. trop. Med.*, 4: 554-556, 1955.
- Grimes, J.E., Sullivan T.D. & Irons, J.V. Some aspects of bat rabies in Texas. *Spring meeting. Texas Branch Soc. Am. Bacteriologists*. May. 29, 1954.
- Grive, J. Le mécanisme du réperage par ultrasons chez les chauves-souris. *La Nature*, N° 3320, p. 535-539, 1961.
- Gutiérrez, A. La rabia en Bolivia. *Curso Teórico-Práctico sobre Laboratorio y Epidemiología de la Rabia*, Buenos Aires, 10-21 de mayo de 1965. Centro Panamericano de Zoonosis, p. 145-146, 1966.
- Hatt, R.T. & Villa, B. Observaciones sobre algunos mamíferos de Yucatán y Quintana Roo. *An. Inst. Biol.*, Univ. Nac. Auton. México, Septiembre, 1950.
- Haupt, H. & Rehaag, H. Durch Fledermäuse verbreitete seuchenhafte Tollwut unter Viehbeständen in Santa Catharina (Sud-Brasilien). *Z. Infekt. Kr.*, 22: 104-127, 1921.
- Hawkey, C. Plasminogen activator in saliva of the vampire bat *Desmodus rotundus*. *Nature* (Lond), 211: 434-435, 1966.
- Hidroglou, M. Les vampires et la rage paralytique des bovidés en Guyane Française. *Rec. Méd. vét.*, 134: 13-20, 1958.
- Hock, R.J. The metabolic rates and body temperatures of bats. *Biol. Bull.*, 101: 289-300, 1951.
- Humphrey, G.L., Graham, E.K. & Gleenwood, A. A fatal case of rabies in a woman bitten by an insectivorous bat. *Publ. Hlth. Rep.* (Wash.), 75: 317-326, 1960.

Hurst, E.W. & Pawan, J.L. An outbreak of rabies in Trinidad, without history of bitten and with the symptoms of acute ascending myelitis. *Lancet*, 2: 622-628, 1931.

Hurst, E.W. & Pawan, J.L. A further account of the Trinidad outbreak of acute rabic myelitis. *J. Path. Bact.*, 35: 301-321, 1932.

Ibarra, J.A. Mamíferos de Guatemala. Publ. del Museo de Hist. Nat., Guatemala, 1960.

International Symposium on Rabies. Proceedings of the 12th Intern. Symp organized by the Permanent Section of Microbiol. Standardization. Talloires (France), May 27-30, 1965. Karger, Basel-New York, 1966.

Jiménez, A.M. Lista de nombres vulgares de mamíferos de Costa Rica. Museo Nacional, San José, Costa Rica, 1962.

Johnson, H.N. The significance of the Negri body in the diagnosis and epidemiology of rabies. *Illinois med. J.*, 81, N° 5, 1942.

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

Johnson, H.N. Rabies in insectivorous bats of North America. *Proc. VI Intern. Congr. Trop. Med. and Malaria*, Vol. 5, p. 559-567, 1958.

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

Kaplan, M.M. Note on bat rabies in India and Germany. Doc. WHO/Rab/47, 1955.

Kaplan, M.M. Bat rabies. Doc. WHO/Rab/ 48, 1955.

Kaplan, M.M. A recent isolation of rabies virus and an unknown virus from bats in the Eastern hemisphere and proven human rabies transmitted by bats in USA. Doc. WHO/Rab/102, 1959.

Kipshagen, F. Observaciones clínicas sobre el mal de caderas de los bovinos. *Rev. Med. vet.*, 12: 226, 1930.

King, V.J. & Saphir, R. Some observations on the feeding methods of vampire bats. *Zoologica-Scient. Conf. N.Y. Zool. Soc.* N° 14-20, 22, 143, 1937.

Kleckner, M. Studies in wildlife rabies. Communicable Disease Center Report, 1958.

Koprowski, H. Experimental studies on rabies virus. *Canad. J. publ. Hlth.*, 40: 60, 1949.

Koprowski, H. Rabies in cattle. II. - Review of immunization of herbivorous animals against rabies. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 127: 359-360, 1955.

Koprowski, H. & Black, J. Studies on chick-embryo-adapted rabies virus. VII. Immunological responses of animals to vaccination with high egg passage Flury strain. *J. Immunol.*, 72: 503, 1954.

Koprowski, H., Black, J. & Neisen, D.J. Studies on chick-embryo-adapted rabies virus. VI. Further changes in pathogenic properties following prolonged cultivation in the developing chick embryo. *J. Immunol.*, 72: 94, 1954.

Koprowski, H., Schroeder, C.R., Black, J. & Burkhart, R.L. Prevention of rabies in cattle. I. Prevention of vampire bat paralytic rabies, derriengue, by vaccination with chick-embryo-adapted rabies virus. *Vet. Med.*, 47: 502, 1952.

Krutzsch, P.H. & Sulkin, S.E. The laboratory care of the Mexican free tailed bat. *J. Mammal.*, 39: 262-265, 1958.

Krutzsch, P.H. & Sulkin, S.E. The anatomical distribution of the inter-scapular and parotid glands of insectivorous bats, *Tadarida*, *Myotis* and *Pipistrellus*. *Anat. Rec.*, 134: 397-409, 1959.

Kubes, V. Rabia. *Memoria del Ministerio de Agricultura y Cría*, Caracas, p. 187, 1942.

Kubes, V., & Gallia, I. Estudios inmunológicos sobre la pluralidad de los virus rábicos en Venezuela. *Bol. Inst. Inv. Vet., Caracas*, 1: 3-43, 1942.

Kubes, V., & Gallia, I. Fenómeno de para-inmunidad entre los virus de la encefalomiелitis equina y de la rabia paralítica en Venezuela. *Bol. Inst. Inv. Vet. Caracas*, 1: 81-100, 1942.

Lara Díaz, V. Dos casos de rabia paralítica bovina en el Estado Anzoátegui. *Rev. Pecuaria*, Caracas, Nos. 31-32, p. 7, 1941.

Maggia, J.B. Incidencia de rabia canina en la Provincia de Guayás y algunos aspectos de su diagnóstico. *Rev. ecuat. Hig.*, 22: 189-200, 1965.

Málaga Alba, A. Informe mensual a la Oficina Sanitaria Panamericana, Mayo 1951.

Málaga Alba, A. Rabies in the United States - Mexican border area. *Proc. 89th Ann. Meet. Amer. Vet. Med. Ass.*, Atlantic City, N.J., 1952, p. 409.

Málaga Alba, A. El vampiro portador de la rabia. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 37: 53-65, 1954. Publicado también en *Amer. J. publ. Hlth.*, 44: 909-918, 1954.

Málaga Alba, A. Informes del brote de rabia transmitida por vampiros en Magdalena y La Guajira, Colombia. Oficina Sanitaria Panamericana, 1956.

Málaga Alba, A. Rabies in wildlife in Middle America. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 130: 386-390, 9157.

Málaga Alba, A. Informes anuales de la Oficina Sanitaria Panamericana. 1952-1958.

Málaga Alba, A. Tropical bat rabies as a public health and veterinary problem. Presentado al *Congreso sobre Medicina Tropical*, Philadelphia, 1958.

Málaga Alba, A. Pathogenesis of rabies in vampire bats. *Canad. J. comp. Med.*, 23: 391-392, 1959.

Málaga Alba, A. La rabia de los murciélagos como problema veterinario y de salud pública. *Ciencias vet.*, 4: 520-531, 1959.

Málaga Alba, A. Factores epidemiológicos que rigen el control de la rabia, *X Congreso de la Asoc. Cient. del Pacífico*, Honolulu, Hawaii, Sept. 1961.

Málaga Alba, A. Epidemiología de la rabia en las Américas. *Curso Teórico-Práctico sobre Laboratorio y Epidemiología de la Rabia*, Buenos Aires, mayo 1965. Centro Panamericano de Zoonosis, 1966, p. 117-127.

Málaga Alba, A. & Campillo Sáenz, C. Rabia humana transmitida por murciélagos; confirmación humana del primer caso en México. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 42: 567-570, 1957.

Málaga Alba, A. & Villa, B. Algunas notas acerca de la distribución de los murciélagos de América del Norte relacionados con el problema de la rabia. *Anal. Inst. Biol. México*, 27: 529-569, 1956.

Marr, F.G. Biología del vampiro. *Biológica*, Santiago, N° 12-13, p. 3-24, 1951.

Marcaida, A. El murciélagos vampiro, un enemigo de las explotaciones porcinas. *Rev. Proinal*, Vol. VII, N° 39, p. 61-63, nov.-dic. 1960.

Martin, R.L. A history of chiropteran rabies with special reference to occurrence and importance in the United States. *Wildl. Disease* N° 3, December 1959.

Maryland is 24th State to report bat rabies. *The Maryland Vet.*, 1(8): 9, 1960.

Matheney, R.G. & Gale, N.B. Rabies: its history in Panama. *Biennial Veterinary Conference*, Communicable Disease Center, USPHS, Atlanta, Ga., August 6-10, 1962.

- Mershown, M.M. Bat rabies... hazards and treatments. *Southern vet.*, 1: 15-17, March 1964.
- Metivier, H.V.M. Paralytic rabies in livestock. *J. comp. Path.*, 48: 245-260, 1935.
- México. Campaña Nacional contra la Rabia. Instructivo para la conservación y remisión de ejemplares de murciélagos para su clasificación y diagnóstico de rabia. *Bol. Epid.*, 20: 155, 1956.
- Migone, L.E. & Peña, R. Le mal de caderas des bovidés du Paraguay. *Bull. Soc. Path. éxot.*, Vol. XXV, 1932.
- Miller, G.S. & Kellog Remington. List of North American recent mammals. *Bull. U.S. Nat. Mus.*, N° 205, 954 p., 1955.
- Mohr, W. Die Tollwut. *Med. Klin.*, Berl., 52: 1057-1060, 1957.
- Molina Solis, J.F. Historia del descubrimiento y conquista del Yucatán. Vol. III, p. 38, México 1943.
- Mondolfi, E. Los murciélagos mordedores o vampiros. *Rev. Pecuaria*, 22: N° 336, p. 19-24, 1954.
- Müller, J.A. Sobre um surto de raiva desmodina em 1956-1957 no Estado do Rio Grande do Sul (Brasil). *II Congr. Nac. Vet.*, Montevideo, p. 245-252, 1957.
- Muñoz Dávila, A. La rabia paralítica bovina en Ecuador. Tipificación y estudios de los virus rábicos aislados. *Rev. Vet. y Zootecn.*, 4(2): 7-33, 1959.
- Nehault, B.B.G. Rabies transmitted by bats in British Guiana. *Amer. J. trop. Med.*, 4: 550-553, 1955.
- Nehault, B.B.G. La rabia transmitida por murciélagos en la Guayana Británica; sus consecuencias en relación con la salud pública. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 53: 13-17, 1962.
- Newsletter. Canada Department of Agriculture, Ottawa, January-July, 1966.
- Nikolitch, M. L'isolement du virus de la rage chez les chiroptères en Yougoslavie. *Bull. Offic. intern. Epiz.*, 48: 507-517, 1957.
- Novicky, R. Aportación al estudio de la rabia bovina en Venezuela. Fijación de los virus en toretes y elaboración de la vacuna. *Bol. Inst. Inv. Vet.*, Caracas, 3: 399-468, 1946.
- Novicky, R. & Ríos. Informe relativo a los estudios acerca de la rabia paralítica del ganado vacuno. *Memoria del M.A.C.*, Caracas, p. 90-91, 1940.
- Oficina Sanitaria Panamericana. Casos notificados de enfermedades de declaración obligatoria en las Américas, 1963 (Publ. Cient. N° 114), junio 1965.
- Paraguay. Control de la rabia en el país. *Conf. de Ministros de Salud Pública de los Países de la Cuenca del Plata*. Puerto Iguazú, agosto 1961. Min. Asist. Social y Salud Pública, Argentina, p. 507-509, 1964.
- Parreiras Hortas. A epizootia de Bignayu. *Rev. Vet. Zootech.*, 11: 5-137, 1911.
- Pawan, J.L. The transmission of paralytic rabies in Trinidad by the vampire bat (*Desmodus rotundus murinus*) Wagner, 1840. *Ann. trop. Med.*, 30: 101-130, 1936.
- Pawan, J.L. Rabies in the vampire bat of Trinidad with special reference to the clinical course and the latency of infection. *Ann. trop. Med.*, 30: 401-422, 1936.
- Pawan, J.L. Fruit-eating bats and paralytic rabies in Trinidad. *Ann. trop. Med.*, 42: 173, 1948.
- Pawan, J.L. Rabies in bats. *Vet. Bull.*, Lederle, Vol. 14, N° 4, November 1955.

Placidi, L. & Santucci, J. La rage des espèces sauvages et notamment des chiroptères *Maroc Méd.*, 37: 682-686, 1958.

Presnall, C.C. Controlando los animales silvestres vectores de rabia a lo largo de la frontera entre México y los Estados Unidos. XIII U.S.-Mexico Border, Public Health Association, México, D.F., mayo 6-9, 1955.

Programa de erradicación de la rabia en Cuba. *Bol. Hig. Epid.*, Habana, 2: 64-81, 1964.

Queiroz Lima, E. A transmissão da raiva dos herbívoros pelos morcegos da família *Desmodontidae*. *Rev. Dep. Nac. Prod. Anim.*, Vol. 1, p. 165, 1934.

Queiroz Lima, E. & Salles, A. Raiva. *J. do Commercio*, Sbro. 10, 1933.

Quiroga, S., Acosta, J., Rottgardt, A., Masselin, J. & Scasco, R. Observaciones y estudios experimentales acerca del mal de caderas de los vacunos del norte de la provincia de Corrientes. Su identidad con la rabia. *Rev. Med. vet.*, 13: 5, 1931.

Quiroga, S., Rottgardt, A. & Acosta, J. Mal de caderas bovino (rabia parestante). *Lab. Bact.*, Min. Agr. Buenos Aires, 1932.

Quiroga, S., Rottgardt, A. & Acosta, J. Utilización de la vacunación antirrábica en la prevención del llamado mal de caderas bovino (rabia parestante). *Rev. Med. vet.*, 15 y 19, 1932.

Rabies threat in Latin America. *Zoonosis*, Pan American Zoonoses Center, PAHO/WHO, Vol. 8, N° 1, p. 32, marzo de 1966.

Ramírez, J. Sobre la rabia parestante en Bolivia. *Zoonosis*, Bol. Inf. del Centro Panamericano de Zoonosis, N° 2, 1959.

Ramírez V., M. Sumario de la historia de la rabia paralítica humana en América. *Memorias Congr. Cient. Nacional*, México, 1953, p. 327-333.

Ramírez V., M. Rabia paralítica bovina. *Ciencias vet.*, 2(5): 543-554, 1957.

Bausch, R. Some observations on rabies in Alaska with special reference to wild canidae. *J. Wildl. Manag.*, 22: 246-260, 1958.

Reagan, R.L. & Brueckner, A.L. Transmission of a strain of rabies virus to the large brown bat (*Eptesicus fuscus*) and to the cave bat (*Myotis lucifugus*). *Cornell Vet.*, 41: 295-298, 1951.

Reagan, R.L., Delaha, E.C. & Brueckner, A.L. Response of the cave bat to several strains of rabies virus. *Cornell Vet.*, 44: 318-321, 1954.

Reagan, R.L., Delaha, E.C. & Brueckner, A.L. Response of the cave bat to several strains of rabies virus by different routes of exposure. *Proc. 91st Ann. Meet. Amer. Vet. Med. Ass.*, 1954, p. 216-218.

Reagan, R.L., Delaha, E.C., Rumbaugh, H.L. & Brueckner, A.L. Early appearance of rabies virus in the blood of cave bats exposed by intraperitoneal injection. *Cornell Vet.*, 45: 153-156, 1955.

Reagan, R.L., Tromba, F.G., Geumlek, M. & Brueckner, A.L. Transmission of a street rabies virus strain (R-174) from the cave bat (*Myotis lucifugus*) to the tick (*Ornithodoros*) by blood feeding: a preliminary report. *Cornell Vet.*, 46: 3-6, 1954.

Reagan, R.L., Tromba, F. & Brueckner, A.L. Study of haemocytes from ticks (*Ornithodoros*) infected by feeding on cave bats (*Myotis lucifugus*) infected with a street virus rabies strain. *Southwestern Vet.*, 8 (2), winter 1955.

Remillard, G. Histochemical and microchemical observations on the lipids of the interscapular brown fat of the female vespertilionid bat *Myotis lucifugus*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 72: 3-63, 1958.

Remlinger, P. & Bailly, J. Identité du mal de caderas bovin et de la rage. *Bull. Acad. Méd.*, 106: 71, 1931.

Remlinger, P. & Bailly, J., *C.R. Soc. Biol.*, 119: 29, 1935.

Richardson, J.H., Ramsey, R.L. & Starr, L.E. Bat rabies in Georgia, 1956-65. *Publ. Hlth. Rep.*, (Wash.), 81:1031-1035, 1966.

Rivera Martín, E. La rabia paralítica bovina en Costa Rica. *Zooprofilassi*, 11: 492-520, 1952.

Rosembusch, F. Observaciones experimentales histopatológicas y etiológicas del mal de caderas de los bovinos de Paraguay. *Primer Congreso Nacional de Veterinaria del Uruguay*, 1930.

Ruiz Martínez, C. Epizootiología y profilaxis regional de la rabia paralítica en las Américas. Monografía. Ediciones Protinal, Caracas, 1963.

Ruschi, A. Algunas observaciones realizadas sobre los quirópteros del Estado Espírito Santo. Palestra realizada na Faculdade de Ciências e Filosofia. Rio de Janeiro, 1953.

Sadler, W.W. The care and housing of bats. *Animal Care Panel Proc.* 8: 147-154, 1958.

Sadler, W.W. & Enright, J.E. Effect of metabolic level of the host upon the pathogenesis of rabies in the bat. *J. inf. Dis.*, 105: 267-273, 1959.

Sanborn, C.C. Protection against vampire bats. *J. Mammal.*, 12: 312-313, 1931.

Sanderson, T. Living treasure. The Viking Press, New York, 1941.

Scatterday, J.E. & Schneider, N.J. Rabies in bats in Florida. Project report N.I.H. grant.

Schneider, N.J. Rabies in bats in Florida. *Amer. J. publ. Hlth.*, 47: 983-989, 1957.

Schroeder, C.R., Black, J., Burckhart, R.L. & Koprowski, H. Rabies in cattle. *Vet. Med.*, 47: 502-506, 1952.

Schroeder, C.R. Rabies in Central and South America. *Proc. Amer. Vet. Med. Ass.*, 89th Ann. Meet., Atlantic City, 1952, p. 411-412.

Silva, R.A. da & col. A pesquisa de virus rábico em morcegos do Brasil. I. *Seminário Nacional sobre Rabia en Colombia*, Medellín, Julio 1967.

Silva, R.A. da, Cola, C.B., Rego, H.F. & Ruschi, A. A pesquisa de virus rábico em morcegos do Estado do Espírito Santo. *Arq. Inst. Biol. Anim.*, 4: 121-126, 1961.

Silva, R.A. da, Rivello, G.V. & Nilsson, M.R. Isolamento de virus rábico de morcego não hematófago da espécie *Phyllostomus hastatus hastatus* (Pallas). *Arq. Inst. Biol. Anim.*, 4: 115-120, 1961.

Silva, R.A. da, & Souza, A.M. Aislamiento de virus rábico de pulmón, corazón, riñón, vejiga y otros diferentes tejidos de murciélagos hematófagos de la especie *Desmodus rotundus*. V *Congr. Panamer. Med. Vet. y Zootecn.* Caracas, 1966.

Silva, R. A. da, & Souza, A.M. Sur l'isolement au Brésil du virus rabique à partir du poumon, du coeur et de différents autres tissus de vampires hématophages appartenant à l'espèce *Desmodus rotundus*. *Bull. Off. int. Epiz.*, 66: 741-745, 1966.

Silva, R.A. da, & Souza, A.M. A ocorrência do virus da raiva no útero, feto, testículos e outros órgãos de morcegos hematófagos, *Desmodus rotundus* na infecção natural. (En prensa).

Sims, R.A., Allen, R. & Sulkin, S.E. Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats. III. Influence of the gravid state. *J. inf. Dis.*, 112: 17-27, 1963.

Souza, M.A. A raiva no estado do Rio Grande do Sul. *Rev. Vet. Zootech.*, 13: 159, 1927.

Souza, M.A. A raiva em bovinos no estado a Matto Grosso. *Rev. Vet. Zootech.*, 15: 65, 1929.

Stamm, D.D., Kissling, R.E. & Eidson, M.F. Experimental rabies infection in insectivorous bats. *J. inf. Dis.*, 98: 10-14, 1956.

Starr, L.E. Rabies prophylaxis in cattle. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 134: 78-81, 1959.

Stroppa, C. Relatório ao Governo do Estado Santa Catharina, 1911.

Sugay, W. & Nilsson, M.R. Isolamento do virus da raiva de morcegos hematófagos do Estado de São Paulo, Brasil. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 60: 310-315, 1966.

Sulkin, S.E. Bat rabies: experimental demonstration of the "reservoring mechanism". *Amer. J. publ. Hth.*, 52: 389-398, 1962.

Sulkin, S.E., Allen, R., Sims, R.A., Krutzsch, P.H. & Kim, C. Studies on the pathogenesis temperature. *J. exp. Med.*, 112: 595-617, 1960.

Sulkin, S.E. & Greeve, M.J. Human rabies caused by bat bite. *Texas State Med. J.*, 50: 624, 1954.

Sulkin, S.E., Krutzsch, P.H., Allen, R. & Wallis, C. Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats. I. Role of brown adipose tissue. *J. exp. Med.*, 110: 369-388, 1959.

Sulkin, S.E., Krutzsch, P.H., Wallis, C. & Allen, R. Role of brown fat in pathogenesis of rabies in insectivorous bats (*Tadarida b. mexicana*). *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 96: 461-464, 1957.

Sullivan, T.D., Grimes, J.E., Eads, R.B., Menzies, G.C. & Irons, J.V. Recovery of rabies virus from colonial bats in Texas. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 69: 766, 1954.

Tellez Girón, A. Informe del estudio anatomopatológico del caso de "tronchado" de Elota. Comunicación oficial del Inst. de Med. Vet., México, 484, 16-3. 1933.

Tellez Girón, A. Identificación del vampiro agente transmisor del derriengue y sugerencias para su captura y exterminio. Sec. Agr. y Fomento, Dir. Gral. de Ganadería, San Jacinto, México D.F., Publ. N° 2, 1945.

Tierkel, E.S. Sylvan rabies. *Vet. Bull. Lederle*, Vol. 14, N° 4, Nov. 1955.

Tierkel, E.S. Current status of rabies in the United States. Summary Report of *Great Lakes Regional Rabies Conference*, Chicago, Ill., 1958. Communicable Disease Center, U.S. Publ. Hlth. Service, p. 1-3 (Mimeografiado).

Tierkel, E.S. Recent developments in the epidemiology of rabies. Introduction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 70: 445-448, 1958.

Tierkel, E.S. Rabies. En: *Advances in Veterinary Science*. Vol. V, Academic Press, New York, 1959, p. 181-226.

Tierkel, E.S. Rabia selvática. *XVI Congreso Mundial de Veterinaria*, Madrid, 1959 (III A.1).

Tierkel, E.S. Veterinary Public Health Newsletter, U.S. Department of Health, Communicable Disease Center, Feb. 1961.

Tierkel, E.S. & Arnstein, P. The present status of bat rabies in the United States. *Proc. 62d. Ann. Meet. U.S. Liv. Sanit. Ass.*, Miami Beach, Fla., 1958, p. 248-252.

Tierkel, E.S. & Neff, H.D. Rabies: methods in laboratory diagnosis. *U.S. Publ. Hlth. Service Publication* N° 568, p. 23- 1957.

Torres, S. Morcegos da família Desmodontidae, seu papel na transmissão de molestias aos animaes. *Rev. Dep. Nac. Prod. Anim.*, Anno I, Nos. 5 y 6, 1934.

Torres, S. & Queiroz L., E. A raiva nos morcegos hematofagos (*Desmodus rotundus murinus*). *Revista do Dep. Nac. Prod. Anim.*, Río de Janeiro, 2: 385-398, 1935.

Torres, S. & Queiroz L., E. A raiva e sua transmissão por morcegos hematofagos infetados naturalmente. *Rev. Dep. Nac. Prod. Anim.*, 2: 3, 1935.

Torres, E. & Queiroz L., E. A raiva e os morcegos hematofagos: morcegos que resisten a infecção torna-se portadores o eliminadores de virus. *Rev. Dep. Nac. Prod. Anim.*, 3: 165, 1936.

Trapido, H.A. Observation of the vampire bat with special reference to longevity in captivity. *J. Mammal.*, 27: 217-219, 1946.

Trinidad Regional Virus Laboratory, 1966. Annual report 1965. 128p. (Rabia: p. 114. Cincuenta casos de mordeduras de vampiros a seres humanos en 2 meses).

Tunçman, Z.M. Les recherches du virus rabique chez les chauves-souris en Turquie. *Microbiol. dergisi Türk.*, 11: 80, 1958.

Uriza, V. & Fraccia, G. El mal de las caderas de los bovinos o pasteurelisis parasiante del Paraguay. *An. Inst. Nac. Parasit.*, 11: 2, 1927.

Valdés Ornelas, O. & Aristain, A.G. Bat rabies in Mexico. *Southern Vet.*, p. 13-16, Nov. 1964.

Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría. Campaña contra la "rabia parálitica" (derrengadera) de los bovinos. *Memoria*, p. 120, Caracas, 1940.

Venezuela. Comité Nacional de Prevención de la Rabia. Bases para un programa nacional de control de la rabia. 1960 (Mimeografiado).

Venezuela. División de Sanidad Animal. Prevención contra la rabia parálitica del ganado. M.A.C., Dirección de Sanidad e Industria Animal, Caracas, 1962.

Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría. *Boletín bimensual de enfermedades de los animales domésticos de declaración oficial obligatoria*, 1960-1964.

Vieyra, C. da Cunha. Ensaio monográfico sobre os quirópteros do Brasil. *Arq. Zool. Estado de São Paulo*, 3: 219-417, 1942.

Villa R., B. Distribución en México de los murciélagos vampiros familia Desmodontidae. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 35: 426-432, 1953.

Villa R., B. El acto de tomar la sangre en los murciélagos hematofagos (familia Desmodontidae). *An. Inst. Biol. Méx.*, 28: 339-343, 1957.

Villa R., B. Combate contra los coyotes y los lobos en el norte de México. *An. Inst. Biol. Méx.*, 31: 463-499, 1960.

Villa R., B. Consultor OSP/OMS. Informe al Centro Panamericano de Zoonosis, agosto 1965.

Villa R., B. Los murciélagos de México. Instituto Biológico, U.N.A.M., México, 1966.

Villa R., B. & Alvarez, B. Rabies virus in the kidney and other tissues of vampire bats in Western Mexico. *Zoon. Res.*, 2: 77-82, 1963.

Villa R., B., Alvarez, B.L. & Domínguez, C.C. Presencia y persistencia del virus de la rabia en la glándula inter-escapular de algunos murciélagos mexicanos *Ciencia* (Revista Hispano Americana de Ciencias Puras y Aplicadas), 22: 137-140, 1963.

Villa R., B. & Jiménez, A. Acerca de la posición taxonómica de *Mormoops megalophylla senicula* Rehn, y la presencia de virus rábico en estos murciélagos insectívoros. *An. Inst. Biol. Méx.*, 31: 501-509, 1961.

Waterman, J.A., ed. Paralytic rabies transmitted by bats in Trinidad. *Caribbean Med. J.*, Vol. 21, Nos. 1-4, 1959 (Contiene trabajos de Pawan, J.L., E. de Verteuil, F.W. Urlich, H. Metivier).

- Wells, K.F. The rabies menace in Canada. *Canad. J. publ. Hlth.*, 48: 239-243, 1957.
- Whitte, E.J. Bat rabies in Pennsylvania, *Amer. J. publ. Hlth.*, 44: 186-187, 1954.
- Williams, R.B. Epizootic of rabies in interior Alaska, 1945-1947. *Canad. J. comp. Med.*, 13: 136-143, 1949.
- Wimsatt, W.A. On the nature of the interscapular gland of the tropical American fruit bat *Artibeus jamaicensis* Leach. *Anat. Rec.*, 121: 549-563, 1955.
- Wimsatt, W.A. Histological and histochemical observations on the parotid, sub-maxillary and sublingual glands of the tropical American fruit bat *Artibeus jamaicensis*. Leach. *J. Morph.*, 99: 169-210, 1956.
- Wiseman, J.S., Davis, B.L. & Grimes, J.E. Rabies infection in the red bat, *Lasiurus borealis borealis* (Müller) in Texas. *J. Mammal.*, 43: 279-280, 1962.
- Wood, J.E. Investigation of fox populations and sylvatic rabies in the Southeast. *Transactions 19th North American Wildlife Conference*, Washington, D.C., 1954, p. 131-139.
- World Health Organization. World surveys of rabies. Geneva, 1960-66.
- Wright, A.C.S. Land in British Honduras. Colonial Office et al. Research publ. N° 24, London, 1959.
- Young, K.S. & Irons, J.V. La rabia en los animales silvestres del Estado de Texas, E.U.A. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 35: 410-417, 1953

Comentarios

DR. BAER — Es realmente sorprendente la falta de información que tenemos acerca de la epidemiología de una enfermedad que aparentemente mata a 1.000.000 de cabezas de ganado cada año en Latinoamérica. Aparentemente, las epizootias en las regiones afectadas vienen en olas, y como bien lo dijo el Dr. Acha en algunos rebaños solamente son mordidos algunos animales; además, puede darse el caso de que en una hacienda haya animales mordidos y en la de al lado no. Se ha visto que en algunas regiones la rabia paralítica continúa siendo un problema durante varios años, mientras que en otras se limita por sí misma, aparentemente por la mortandad entre los mismos vampiros. Con respecto a la inmunidad, hemos visto que en México, donde se emplea vacuna de alto pasaje y otra que se llama "autógena", preparada con cerebros de animales muertos de rabia paralítica, los animales están protegidos 4, 5 y 6 meses y el dueño del ganado se ve en la necesidad de empezar a vacunar otra vez cuando aparece la segunda ola de mortandad, después de medio año. Creo que hay una gran necesidad de encontrar una vacuna, quizás con una cepa de vampiro, que produzca inmunidad duradera después de una sola inyección en el ganado. Con respecto al otro aspecto, el control de los vampiros, en varias partes se está usando o ensayando hoy día la introducción en las cuevas del virus de Newcastle, varios insecticidas y otras sustancias tóxicas. Creo que hay un problema muy serio implicado en el empleo de esas sustancias: primero, la matanza de otras especies benéficas de murciélagos; luego, la dificultad de reducir realmente la población de vampiros por lo

difícil que es llegar a las múltiples entradas y salidas de las cuevas. Tarde o temprano va a tener que encontrarse una sustancia que se pueda aplicar de alguna manera a las vacas, ya que los vampiros, y solamente los vampiros, llegan a las vacas; además se sabe más o menos cuándo muerden y dónde muerden.

DR. GREENHALL — Yo creo que el Dr. Acha ha realizado un magnífico trabajo al resumir este problema y ponerlo al día; me gustaría tomar unos momentos para comentar sobre los murciélagos mismos.

El orden de los murciélagos es bastante grande, incluyendo alrededor de 2000 especies en el mundo; en América del Norte se han encontrado más de 200 especies. Dado que en el Nuevo Mundo los murciélagos son probablemente vectores reales o potenciales de la rabia, ¿cuáles especies tienen prioridad para la investigación de salud pública? Con la colonización del Hemisferio Occidental y el establecimiento de la cría de ganado, ciertos murciélagos cambiaron sus hábitos normales de alimentación y de alojamiento; esta adaptación los benefició, haciendo que su número aumentara hasta alcanzar, en algunos casos, proporciones alarmantes.

Muchas especies, por ejemplo, abandonaron los troncos de los árboles para instalarse en los edificios que albergaban a los hombres o a los animales domésticos; además, estos últimos ofrecieron para algunas especies una fuente de alimentos más accesible y más abundante que la proporcionada por los pájaros y los animales silvestres. Un contacto más estrecho entre los murciélagos, el hombre y los animales domésticos facilitó la transmisión de patógenos. Estas especies adaptables son las que crean problemas de salud pública y requieren un control. Tengo una lista, en orden zoológico, de las principales especies de importancia en salud pública. El primero es el *Noctilio leporinus*, murciélago que se alimenta de pescado y también de insectos; se lo encuentra desde México hasta América del Sur. El *Phyllostoma hastatus* es omnívoro, se alimenta de una cantidad de cosas; se lo encuentra desde Honduras a Bolivia, incluyendo Trinidad y Panamá. Es el segundo en tamaño en las Américas; sus alas desplegadas miden alrededor de 24 pulgadas. El *Glossophaga soricina* se alimenta preferentemente con el néctar de ciertas flores; es un murciélago de tipo insectívoro y se lo encuentra desde México hasta el norte de Argentina y Paraguay. Luego el *Carollia perspicillata*, murciélago frugívoro de cola corta, que se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales de América Central y del Sur; es probablemente el murciélago frugívoro más abundante en las Américas. Luego viene el *Artibeus jamaicensis*, frugívoro, que se encuentra desde México hasta el norte de América del Sur. El *Artibeus lituratus* es otro murciélago frugívoro, mucho más grande que el anterior; se lo encuentra desde México hasta el norte de Argentina. El vampiro *Desmodus rotundus*, común desde México hasta el norte de Argentina y Uruguay, es probablemente el vector más importante

de rabia entre los murciélagos. *Diaemus youngi*, el vampiro de alas blancas, se encuentra desde el norte de México al sur de Brasil; este vampiro tiene en la boca unas glándulas que producen una sustancia de olor fuertemente almizclado. El tercer vampiro es el *Diphylla ecaudata*, el vampiro de patas peludas; se lo encuentra desde el norte de México hasta el sur de Brasil. *Eptesicus fuscus*, los grandes murciélagos morenos en su forma insectívora se encuentran desde Canadá hasta Panamá y son probablemente los murciélagos más comunes en Estados Unidos. El *Eptesicus brasiliensis* es un pariente cercano, presente desde México hasta la Argentina. Luego tenemos al *Lasiurus borealis*, un murciélago rojizo, insectívoro, solitario, migratorio, existente en Chile, Paraguay y Argentina. Este es también un murciélago interesante en Estados Unidos. *Tadarida brasiliensis*, el murciélago brasileño de cola libre, se encuentra desde Estados Unidos hasta Chile y Argentina. Estos murciélagos se agrupan por millones en las cuevas del sudoeste de Estados Unidos. El *Molossus ater* es el murciélago insectívoro de cola libre más grande, y se encuentra desde México a Paraguay y norte de Argentina; es el más abundante de los murciélagos que habitan en las casas.

Los murciélagos mencionados tienen los siguientes atributos en común: se los ha encontrado rábidos en uno o más países, están ampliamente distribuidos en el hemisferio, se alojan frecuentemente en los edificios, tienen dientes suficientemente fuertes como para penetrar la piel humana, viven en colonias —con excepción de los *Lasiurus* que son solitarios— no hibernan (con excepción de los *Eptesicus*), se alojan en los mismos lugares que los *Desmodus* (excepto los *Eptesicus* y los *Lasiurus*), son grandes voladores y pueden recorrer largas distancias o viajar mucho dentro de sus habitats (con excepción de los *Eptesicus*). Yo creo que éstos son los murciélagos a quienes habría que dar prioridad en cuanto a su control.

DR. SIKES — Repetidamente surge la cuestión referente a la posibilidad de una vacuna que proteja contra el derriengue. Quisiera saber si alguien, en esta reunión, tiene información con respecto a las diferencias entre el derriengue y otras cepas de virus rábico en cuanto a las pruebas de seroneutralización y otras características. No sé si las fallas registradas se deben al tipo de vacuna o a la forma de uso y de abuso.

DR. JOHNSON — Los estudios realizados en nuestro laboratorio con la cepa del derriengue indican que cuando se vacunan ratones con vacunas HEP y 3 a 4 semanas más tarde se los confronta con una cepa de derriengue, se muestran inmunes. Por consiguiente, yo creo que las fallas se deben principalmente a la calidad de la vacuna usada. No tengo conocimiento de ninguna falla de la vacuna HEP en Estados Unidos. Quisiera preguntar si hay mangostas en Panamá.

DR. ACHA — No, Dr. Johnson; según lo que sabemos en Panamá no hay mangostas. Las mangostas fueron llevadas a Puerto Rico y

a algunas otras islas del Caribe, pero donde el problema de rabia en mangostas aún persiste es en Granada, en Puerto Rico y en Cuba. Pero en Panamá hay otros animales que pueden actuar como reservorios de rabia, principalmente mustélidos, aunque nunca se ha hecho un estudio en estas especies para ver si hay alguna asociación con la rabia de los quirópteros. En Panamá también se presentan casos de rabia en ganado, en bovinos y en equinos. En Costa Rica hay rabia en murciélagos, principalmente en Guanacaste; la rabia canina no existía en el país hasta 1957 en que hubo un brote que fue controlado; lamentablemente no ha habido continuidad en el programa y el país se ha vuelto a reinfectar con rabia canina, probablemente debido a perros rabiosos que vienen de la parte de Nicaragua. La rabia en murciélagos en Costa Rica fue muy bien descrita por Ribera, por el año 1952; yo he podido apreciar personalmente varios brotes en ganado en la zona de Guanacaste, y en la región de Abangares, que fue una zona minera, donde han quedado túneles y cuevas y existe una gran población de quirópteros incluyendo vampiros.

Quisiera referirme un poco al aspecto que tocó el Dr. Johnson referente a las vacunas que se usan para inmunizar ganado. Todos cuando hablamos de inmunización en ganado decimos que usamos HEP; personalmente yo he podido comprobar, por estudios realizados sobre muchas vacunas llamadas HEP, que esas vacunas no inmunizan a nadie, sencillamente porque no tienen virus activo o tienen un título muy bajo. Lo que pasa es que las vacunas son de pobre calidad. Yo creo que ha habido mucho descuido en el aspecto de la calidad de las vacunas para la inmunización de ganado. Hay también otro aspecto que no se ha estudiado debidamente; no me refiero ya a la cepa misma del virus, sino al tipo de vacuna a ser usado, la concentración de tejido, la dosis misma, la vía de aplicación. Si Uds. observan, la mayoría de los trabajos realizados fueron bajo presión, en momentos en que había brotes en el ganado, y se tuvo que usar vacuna de diferentes tipos. Recordemos que la primera vacuna que se usó en ganado fue LEP y no HEP; después se descartó la LEP. La vacuna HEP se ha producido en muchos lugares y yo creo que, en gran parte, las fallas son debidas a la pobre preservación y a la mala aplicación. Puedo relatarles lo que vi en una hacienda donde se estaba inmunizando el ganado. El capataz que hacía la vacunación recibía los frascos de vacuna a las 7 de la mañana, usaba el diluyente, mezclaba la vacuna, la metía en su morral y se iba al campo; con eso vacunaba todo el día. Pero lo más curioso era la forma cómo vacunaba. Primero hacía un agujero en el animal con un clavo que llevaba en el bolsillo, y después vacunaba. Como yo desconocía la técnica lo interrogué y me dijo: "Muy sencillo, doctor. Yo no tengo más que una aguja y a lo mejor se me quiebra o se me dobla". Esto es para darles una idea de la utilización de esta vacuna que, lamentablemente, no está bajo vigilancia profesional. Lo mismo ocurre en los países cuando se importa vacuna. La vacuna llega al aeropuerto donde a lo mejor no tienen cámara fría, y se queda en la aduana

por un mes o un mes y medio. Yo creo que existen vacunas que actualmente se están utilizando y que han demostrado en el terreno su eficacia. Trinidad es un ejemplo. En Trinidad se hizo una vacunación sistemática del ganado con vacuna HEP y han logrado reducir el número de casos prácticamente a cero. Claro, alguien podría decirme que allí es más fácil, pues es una isla pequeña, pero también es cierto que es en esta isla donde la rabia de los murciélagos está bien difundida y donde el ganado está expuesto constantemente a la mordedura de los vampiros.

Actualmente el Centro Panamericano de Zoonosis está desarrollando un estudio serológico de diferentes vacunas para uso bovino; en este momento se está procediendo a la confrontación para ver si estas vacunas protegen frente a una infección experimental.

DR. FORREST. — Yo quisiera referirme en primer lugar a las observaciones de los Dres. Baer y Greenhall. Con respecto a la destrucción del murciélago nosotros, en las cuevas de las provincias de Salta y Jujuy habitadas por poblaciones de *Desmodus rotundus*, hemos empleado con éxito el cianuro de calcio que, en contacto con el aire genera ácido cianhídrico, y de esa manera terminamos rápidamente con las colonias. En alrededor de 20 cuevas visitadas no hemos observado otros huéspedes que no fueran *Desmodus rotundus*. Con respecto a la observación del Dr. Baer, hemos titulado virus de bovinos muertos por mordedura de vampiro, y sobre 50 muestras hemos obtenido un título máximo de 10^5 y un mínimo de $10^{2.8}$. Con referencia a las cepas a emplear en las vacunas para la inmunización del ganado receptivo, en el país existen experiencias hechas por los Dres. Grillo Torrado y Giacosa, las cuales establecen que con una cepa Pasteur se puede inmunizar eficazmente al ganado contra las cepas autóctonas. Nosotros, por nuestra parte, tenemos una experiencia realizada en Salta, en la cual se vacunaron 10.000 bovinos con una cepa de virus Pasteur de París; era una vacuna de virus activo y hasta el momento no se han registrado fallas de inmunidad pese a estar en una zona de alta incidencia de rabia. En nuestra campaña hemos vacunado hasta el momento alrededor de 500.000 animales y hemos utilizado distintos tipos de vacuna, precisamente porque no teníamos una experiencia sobre este asunto. Hemos usado vacuna HEP; una vacuna experimental nuestra, de virus activo, preparada con la misma técnica; una vacuna de virus inactivado preparada con cerebro de ratón lactante; vacuna adsorbida sobre hidróxido de aluminio "Formidogel", muy conocida en Brasil; y por último estamos utilizando actualmente una vacuna de cultivo de tejido. En general hemos comprobado, para los animales de esa zona que están altamente parasitados por ecto y endoparásitos, que la inmunidad no pasa de los 6 meses. Se ha hecho el muestreo de sueros a los 30, 60, 90 y 180 días y los resultados nos han llevado a esa conclusión. Hemos podido establecer también que los índices de neutralización varían, en dife-

rentes zonas de la misma provincia; según el ganado esté muy parasitado o poco parasitado.

DR. TREJOS. — Quisiera pedir que discutiéramos la influencia de la temperatura en la relación huésped-parásito con respecto al virus rábico en diferentes huéspedes y en cultivo de tejido. Estoy seguro de que el Dr. Wiktor y el Dr. Atanasiu podrían hacer algunos comentarios sobre el problema de la influencia de la temperatura sobre la replicación del virus rábico. Ya que el Dr. Acha se refirió a la hibernación; éste puede ser un buen momento para discutir este tema.

DR. ACHA — En cuanto al tema que trae el Dr. Trejos, el único trabajo que pude leer sobre la influencia de la hibernación en el desarrollo del virus rábico es el de Sulkin; trabajó con *Tadarida*, un murciélago que no hiberna, y con *Myotis lucifugus*, que sí lo hace. Ya mencioné algunos detalles en la presentación de mi tema. Sulkin indica claramente que la hibernación retarda la multiplicación del virus en los murciélagos, y considera entonces que la temperatura podría tener efecto sobre la proliferación del virus, lo que no parece ocurrir en otras virosis; por ejemplo, los animales son más susceptibles en frío al virus Coxackie y al virus influenza.

DR. HABEL. — Es necesario recordar que una de las características importantes de los virus es su habilidad de mutación. Como resultado de la aplicación de ciertas presiones durante la multiplicación, puede hacerse una selección de mutantes que son capaces de multiplicarse a ciertas temperaturas. Esto se está haciendo y nosotros buscamos ciertas mutantes que se multiplican a diferentes temperaturas. Estas mutaciones tienen lugar en la multiplicación viral por lo menos una vez en cada millón de partículas, y cuando pensamos en la cantidad de partículas víricas que se producen en una infección, incluyendo la rabia, es fácil ver cómo tales mutantes pueden ser selectivas para diferentes temperaturas. Por lo tanto yo me pregunto, con respecto al virus de la rabia, si alguien ha probado la sensibilidad al calor de las cepas de murciélagos y las ha comparado con cepas de virus aislados de otras especies animales. Dado que los murciélagos tienen a menudo una temperatura corporal diferente a la de otros animales, éste podría ser un factor importante con respecto a la rabia de los murciélagos.

En otro lugar donde la temperatura puede ser importante es en las vacunas de virus vivo. Nosotros elegimos una temperatura arbitraria para la multiplicación de virus rábico *in vitro*. En los sistemas de cultivo de tejido a menudo elegimos la temperatura que nos da la máxima cosecha de virus para la producción de vacuna. Esta temperatura puede no ser la mejor para la protección del animal que va a ser vacunado.

DR. GREENHALL. — He hecho una observación interesante en México, que el Dr. Baer a lo mejor quisiera investigar. No hace mucho se realizó un estudio sobre la tolerancia de los *Desmodus* al frío

y al calor. Encontramos que este animal no puede soportar temperaturas cercanas al congelamiento, y cuando la temperatura baja de los 40°F el murciélago se agita extremadamente en el laboratorio, ingiere una cantidad de sangre mucho mayor que lo usual, y se vuelve muy agresivo.

En Oaxaca, México, durante una epizootia de rabia se produjo la aparición de una ola de frío del norte, y la gente comentaba que los vampiros se habían vuelto muy agresivos, intensificándose las mordeduras al ganado. Yo no sé qué efecto pueda tener esto sobre la transmisión del virus rábico, pero entiendo que donde se registró por primera vez rabia en los vampiros fue en Brasil, país bastante frío en invierno.

DR. MORA. — Yo sólo quería referirme a lo planteado por el Dr. Acha en relación a la temperatura y la rabia. En el año 1955 se realizaron en el Hospital de Infecciosos de Santiago, algunas observaciones hibernando aquellos pacientes que llegaban con rabia. Se observó que el periodo de estado de la enfermedad se prolongaba extraordinariamente; lo que normalmente duraba de 3 a 6 días, con la hibernación llegaba a 11 días, e inclusive hubo un caso de 12 días de periodo de estado.

DR. RENATO DA SILVA. — En el Brasil, nosotros tenemos brotes de rabia en zonas frías, principalmente en Santa Catarina y también en Río Grande do Sul.

DR. LOREGNARD. — A juzgar por la literatura parecería que la rabia está declinando en Trinidad. En 1962, hubo 18 casos confirmados por laboratorio en bovinos y en 1963 no hubo ninguno. Ningún caso fue observado hasta enero-febrero de 1967, y los 2 ocurridos en 1967 fueron en la parte este de la isla. Por qué los casos ocurrieron allí no se sabe. La aparición repentina de 2 casos en 1967 puede ser debida a que la enfermedad está siguiendo su ciclo periódico, o puede ser porque una gran parte de la población de equinos y bovinos de Trinidad está vacunada. Los dos animales que murieron en 1967 no estaban vacunados. El nivel de vacunación en Trinidad es de alrededor del 70 % y se usa vacuna HEP.

El programa de control incluye también la captura y destrucción de vampiros. Durante los últimos 20 años se han destruido alrededor de 1.500-1.600 vampiros anualmente. Este factor puede también influenciar la epidemiología de la rabia. Trinidad es una isla pequeña y esto facilita el control. Durante los últimos 2 años se ha intensificado el programa de captura de murciélagos y ahora estamos destruyendo unos 2.400 por año. Esto puede no parecer mucho comparando con otras regiones, pero ha demostrado tener influencia sobre el cuadro de la rabia.

Quiero referirme a la cifra de 5.000 dólares de pérdida anual para Trinidad por rabia, que figura en el cuadro IV de la presentación del Dr. Acha. Las pérdidas reales son mucho mayores, no tanto por

la muerte de animales sino por la pérdida diaria de sangre. Estando expuestos en una forma tan severa a las mordeduras de los vampiros, la producción de leche puede bajar en 10% de su nivel normal. También, bajo tales condiciones, los animales se hacen mucho más propensos a infecciones y enfermedades. En términos de pérdidas económicas, nuestro programa de control bien vale lo que cuesta. No quisiera hacer conclusiones con respecto a si estamos o no en camino de controlar la rabia, pero, con seguridad, hemos tenido pocos casos en los últimos años.

DR. KAPLAN. — Me gustaría comentar otro aspecto de la epidemiología de la rabia en los murciélagos. Una cuestión que vale la pena discutir es si la rabia de los murciélagos insectívoros, particularmente en los Estados Unidos, es un fenómeno de propagación o si ha estado presente por años sin ser reconocida. Nosotros tenemos ahora evidencia concreta de la existencia de rabia en murciélagos en el Viejo Mundo: en Turquía, Yugoslavia, Alemania, y posiblemente en la India y Tailandia. Es una situación seria, ya que la rabia de los murciélagos insectívoros parece estar propagándose en varias partes del mundo. Si es una situación de propagación podría, en el sudeste de Asia, involucrar a los monos, a otros animales, y al hombre. Una vez que la infección invada ciertos reservorios silvestres podemos encontrarnos con una situación mucho más seria que la que existe. Por otra parte, es interesante que la infección no haya sido encontrada en Africa. Quizás en este continente no hemos investigado lo suficiente. Con respecto a la rabia en murciélagos yo creo que muy bien podríamos preguntarnos si es una nueva forma de desarrollo o una forma que permaneció desconocida pero existente durante mucho tiempo.

Parece que se minimiza la posibilidad de transmisión de la rabia de los murciélagos a otros mamíferos. En el laboratorio por lo menos, es difícil propagar la rabia de los murciélagos a otros animales. En la naturaleza no estoy seguro de que sea tan difícil, porque en los Estados Unidos nosotros sabemos que los murciélagos atacan y muerden a los seres humanos y ha habido más de un caso de transmisión de la rabia al hombre por los murciélagos insectívoros. Esto debe ocurrir en la naturaleza y, siendo así, podemos encontrarnos frente a un concepto cambiante de la epidemiología de la rabia.

DR. SIKES. — El Dr. Kaplan ha hablado sobre la importancia de los murciélagos insectívoros con respecto a la rabia en los Estados Unidos. En el laboratorio nosotros hemos obtenido sólo resultados negativos al tratar de transmitir la rabia de los murciélagos a otros mamíferos. En el campo, varios Estados informan, año tras año, casos de rabia sólo en murciélagos. Parece haber un ciclo en murciélagos y está admitido que es un problema de salud pública. Nosotros hemos ido a Estados tales como Mississippi, que durante varios años ha tenido sólo rabia en murciélagos y hemos buscado la enfermedad en otras especies de animales sin haberla encontrado ni aún en bovinos,

una especie muy susceptible. Por consiguiente, hasta probar lo contrario yo diría que la rabia de los murciélagos insectívoros es un ciclo diferente al observado en otros animales.

DR. GREENHALL. — Quisiera hacer algunos comentarios sobre la cuestión de si la rabia de los murciélagos es algo nuevo o ha estado presente durante varios años. Recuerden que los murciélagos vuelan y algunas de las especies que en los Estados Unidos presentan los niveles más altos de infección son precisamente migratorias. Muy a menudo con los primeros fríos los murciélagos comienzan a emigrar y pueden llevar la infección a grandes distancias.

Nosotros hemos encontrado murciélagos positivos a rabia en todos los estados de Estados Unidos menos en Hawaii y Alaska. Recientemente hubo un murciélago positivo en Washington, D. C. Sin embargo, esto no es sorprendente, ya que muchos murciélagos positivos han sido encontrados en Baltimore, Maryland, a poca distancia de Washington.

¿Desde cuándo existe la rabia en los murciélagos? Yo creo que ésta es una pregunta sin respuesta. La publicidad y el reconocimiento del público de la existencia de la rabia en los murciélagos puede haber contribuido a aumentar el número de murciélagos positivos encontrados en los Estados Unidos.

DR. ACHA. — Quisiera hacer una pregunta al Dr. Greenhall. ¿El vampiro *Desmodus* recorre grandes distancias?

DR. GREENHALL. — No estoy seguro de cuánto pueden volar los vampiros. Algunas evidencias indicarían que pueden desplazarse hasta 25 Km. en una dirección y volver nuevamente hacia atrás. Los vampiros deben volar en bandadas y sus movimientos deben ser estudiados. Otros murciélagos pueden volar grandes distancias; por ejemplo, el murciélago mejicano de cola libre puede recorrer 1000 millas o más. El murciélago rojo emigra con la aparición del frío y se han encontrado ejemplares a 600 millas o más de su punto de partida. Estoy seguro de que si los vampiros no encuentran suficiente alimento deben trasladarse hasta encontrar animales de los cuales alimentarse.

DR. LOREGNARD. — La información obtenida en Trinidad indica que los vampiros, por regla general, no viajan más de 2 ó 3 millas. La mayor distancia que nosotros hemos observado ha sido 4 millas. Cuando se nos comunica un caso positivo de rabia se realiza una captura extensiva de vampiros y, por lo general, dentro de un área de una milla del lugar del caso encontramos una colonia de vampiros. Una cosa que no podemos explicarnos es la aparición de una colonia de vampiros en una zona nueva.

DR. COCOZZA. — La significación de la rabia del vampiro para la salud pública ya ha sido discutida. Pawan, en 1936, dio la cifra de más de 80 personas muertas en Trinidad. Desde esa epidemia, sin embargo, no hay conocimiento de otra. Nosotros no conocemos

la causa de este brote y quizás deberíamos considerar la ecología de los vampiros. Hace años el vampiro tenía que trabajar fuerte para conseguir su sustento. Actualmente, el hombre y sus técnicas agrícolas han introducido a los bovinos y este animal provee una buena fuente de alimento para los vampiros; este hecho ha contribuido, indudablemente, al aumento del número de vampiros.

En Trinidad, las relaciones ecológicas pueden haber cambiado desde el tiempo de Pawan; o quizás la rabia fue introducida en ese momento desde el continente sudamericano y tal oportunidad no se ha presentado desde entonces. Tal vez el Dr. Greenhall podría comentar algo sobre esto.

DR. GREENHALL — Con respecto a Trinidad, se descubrió cierta información interesante en un viejo libro de historia. En este libro se afirma que en el principio de la historia de Trinidad la gente notó que los vampiros llegaban a la isla, se alimentaban del ganado y luego los bovinos morían. Quizás durante muchos años los vampiros aparecieron periódicamente en Trinidad.

Con el objeto de realizar un estudio sobre los alimentos preferidos, hemos recogido sangre del estómago de 2 ó 3 mil murciélagos para pruebas de precipitación. Los bovinos constituyen la parte principal de la dieta, pero hemos encontrado que los vampiros pueden alimentarse de 3 ó más especies en una noche, por ejemplo, de caballos, vacas y cerdos. Quizás la composición de la sangre bovina no es enteramente satisfactoria para los vampiros. Encontramos también una cantidad de sangres que aparentemente pertenecen a animales silvestres, pero no identificables. Nos interesaría continuar estudios para descubrir de qué animales silvestres se alimentan los vampiros.

NUEVOS CONCEPTOS SOBRE EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL DE LA RABIA

James H. Steele *

EPIDEMIOLOGIA

Conceptos antiguos

La epidemiología de la rabia ha venido considerándose desde hace más de 2000 años. La enfermedad era ya probablemente conocida por las antiguas civilizaciones del Nilo, Eufrates y valle del río Indo; los pueblos de esa época atribuían la rabia a condiciones meteorológicas, castigos mitológicos o ingestión de alimentos prohibidos. El concepto de contagio se desarrolló a partir de todas esas causas, como consecuencia de la violación de ciertos tabúes religiosos o espirituales. La relación entre la rabia y la mordedura de los perros era conocida, sin duda, antes de que Hipócrates llamara la atención sobre la propagación de la enfermedad por perros furiosos que se destruían entre ellos, así como a todo lo que encontraban a su paso. También Aristóteles sabía que los perros rabiosos podían infectar a todas las criaturas que mordían, excepto al hombre. Es difícil de entender por qué excluía al hombre. Plinio, el historiador romano, reconoció que la rabia era una enfermedad infecciosa de los perros, la cual podía ser transmitida al hombre. Las innumerables curas citadas por él indican que la enfermedad era bastante común en el Imperio Romano.

En *Hippiatrika*¹, la colección de escritos de los veterinarios bizantinos de los siglos IX y X, se discute la enfermedad en detalle. Lo más sorprendente es la idea de que era una enfermedad curable. Entre los métodos de cura estaba la excisión de los "lyssa" sublinguales, el cordón fibroso del dorso de la lengua. Esta operación era considerada, así mismo, una medida preventiva.

El hecho de que la fábula del "gusano" debajo de la lengua, introducida por Plinio o posteriores escritores "científicos", fue más que un mito durante 1000 años, es atestiguado por los veterinarios del siglo XIX, quienes describieron la operación que solicitaban deportistas y cazadores. Blaine, autor de *patología canina* (1817) establece que muchos deportistas cultos creían que la remoción del "gusano" de debajo de la lengua era esencial en la prevención de la rabia aguda, y que en los animales privados del "gusano" sólo ocurría la rabia muda.

En 1874, Fleming, en su trabajo sobre rabia, indica que la práctica era aún común, aunque Blaine había señalado, más de 50 años antes, que la extracción quirúrgica de los "lyssa" sublinguales

(*) Jefe, Sección de Salud Pública Veterinaria, Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, Servicio de Salud Pública, Departamento de Salud, Educación y Bienestar de los Estados Unidos, Atlanta, Georgia, Estados Unidos.

no era de valor alguno y podía interferir en el normal movimiento de la lengua.

Ya los médicos y veterinarios medievales sabían probablemente de la existencia de una forma furiosa y otra muda de la rabia. Entre los primeros en tratar de diferenciar los tipos estuvo Tuberville (1576). Sus descripciones de los síntomas, incluyendo los aullidos excesivos, son bastante interesantes; él afirma que la rabia mata al animal en 3 ó 4 días. Más adelante dice que la enfermedad puede durar 9 meses. Se supone que quiso referirse al período de incubación, ya que afirma que los animales viven sólo 3 ó 4 días con síntomas furiosos.

La rabia de los animales domésticos era conocida desde la época de Aristóteles. La primera descripción de rabia en animales silvestres probablemente ocurrió más o menos en el mismo tiempo, aunque los agricultores romanos fueron los primeros en mencionar la enfermedad en sus ensayos. Durante la Edad Media hay muchas referencias a animales salvajes rabiosos que destruían a los animales domésticos e invadían ciudades, pero el perro continúa siendo considerado como la fuente de la enfermedad por lo que se puede deducir de los escritos históricos.

La primera aparición de la rabia en América fue en el siglo XVIII cuando se describieron casos en perros y zorros en las colonias inglesas. Un informe antiguo, atribuido a un sacerdote, afirma que la rabia puede haber invadido México en la primera parte del siglo XVIII. La propagación de la rabia a través de América del Norte ha sido notificada por exploradores, cazadores, soldados, pioneros, científicos e historiadores. Los informes de la enfermedad en América del Sur estaban confinados a las áreas suburbanas y puertos hasta principios del siglo XX, cuando se observó por primera vez rabia en los murciélagos en el sur de Brasil.

Los últimos 100 años mostraron una explosión epizootica de rabia a través de las Américas, con muchas especies animales afectadas. En el norte se encontraron lobos, zorros y perros enfermos. En las zonas templadas, coyotes, zorros, lobos, zorrinos y perros estaban involucrados. En América tropical la enfermedad fue encontrada principalmente en perros hasta el descubrimiento de la rabia en murciélagos en la primera mitad del siglo XX.

A fines del siglo XIX la rabia fue confirmada como una enfermedad transmitida por una mordedura al aislarse el virus de la saliva de los animales enfermos. Este concepto iba a permanecer hasta mediados del siglo XX, cuando surgieron interrogantes sobre el ciclo del virus rábico en la naturaleza. Los estudios de rabia en vampiros dieron lugar a numerosas preguntas, para las cuales aún no se ha hallado respuesta. Se pensó que la enfermedad se transmite entre los vampiros por mordeduras, pero surgieron dudas al respecto cuando se supo que en el sudoeste de los Estados Unidos ocurrieron casos de infección sin mordeduras entre murciélagos insectívoros. También los conceptos sobre la supervivencia del virus rábico en murciélagos y otros

animales deben ser revisados para clarificar la posibilidad de encontrar portadores, enfermedad crónica y enfermedad latente.

Los problemas epidemiológicos de la actualidad cubren un vasto espectro biológico que incluye a todos los mamíferos de sangre caliente y algunos artrópodos. Cuál puede ser el rol de los varios huéspedes animales en el mantenimiento de la rabia en las diferentes áreas geográficas es una cuestión pertinente a cualquier campaña de control. Si uno mira a las Américas, la pauta epidemiológica difiere de la de la Tundra del Artico, las zonas de temperatura templada, de la de los desiertos y las áreas tropicales.

La enfermedad en el Artico

El Artico tiene un problema de rabia muy particular; durante varias décadas fue llamada enfermedad de los perros del Artico, hasta que Plummer identificó la enfermedad como rabia en 1947^{2, 3}. Desde entonces, la rabia ha sido reconocida en todas las zonas de tierra e hielo dentro del círculo ártico, tanto en el hemisferio occidental como en el oriental. Los investigadores rusos describieron una enfermedad de los zorros, que llamaron "rabidity" (semejante a la rabia). Otros nombres de la enfermedad incluyen: enfermedad nerviosa del Artico, rabia polar, ataques de invierno, y enfermedad del norte. Desde que Plummer publicó sus observaciones en 1947, informes adicionales han revelado que la rabia estaba diseminada ampliamente en Alaska y alcanzaba proporciones epizooticas entre los lobos, zorros y perros en 1945, continuando la situación durante una década⁴.

Rausch⁵ ha estudiado la enfermedad en cánidos salvajes de Alaska y cree que la rabia ha estado presente por muchas décadas, y que el reservorio se encuentra entre los zorros árticos (*Alopex lagopus*) siendo transmitida ocasionalmente a los lobos, coyotes y perros de trineo por animales mordedores. La baja incidencia de la enfermedad en el hombre es atribuida a la protección que les brinda la clase de ropa usada por los esquimales; sin embargo, ocasionalmente, han sido notificados casos de individuos mordidos en las manos o en la cara.

Los investigadores rusos que estudiaron la enfermedad de los zorros árticos han descrito la condición como rabia^{6, 7}. Sus conclusiones son similares a las de otros observadores: que la enfermedad se mantiene en el zorro ártico⁸, y es transmitida a otros animales, incluyendo los osos polares, cuando el zorro está rabioso y ataca todo lo que encuentra. La posibilidad de que el armiño (*Mustela ermineae*) o la comadreja (*Mustela sp.*) sean reservorios ha sido considerada por algunos científicos, pero no se ha encontrado evidencia para sostener esta hipótesis⁹.

La más grande epizootia de rabia en el Artico es probablemente la notificada por veterinarios daneses durante la última década¹⁰, en

el oeste de Groenlandia, donde murieron más de 1000 perros. La enfermedad no se conocía en la costa hasta 1963, cuando apareció en perros de trineo. La enfermedad en esos perros no sólo constituía una amenaza para la salud pública, sino que también hizo estragos económicos en algunos distritos, donde más de la mitad de los perros murieron. Se cree que la enfermedad estuvo presente en Groenlandia durante más de 100 años, pero su presencia no fue confirmada hasta 1959, cuando los primeros tejidos de perro y zorro fueron enviados al Centro de Enfermedades Transmisibles, Atlanta; las muestras resultaron positivas a rabia¹¹. El primer caso humano comprobado ocurrió en 1960, en un niño de Groenlandia de 4 años de edad.

Investigadores americanos y daneses que estudiaron la enfermedad en el norte de Groenlandia encontraron que 1/3 de los perros y zorros examinados tenían virus rábico. La tasa de infección en los zorros era dos veces la de los perros. Crandall¹³ establece en su estudio que los corpúsculos de Negri rara vez estaban presentes en el material que examinó. Encontró que la técnica de anticuerpos fluorescentes y el método de inoculación en ratones eran los únicos procedimientos aceptables para el diagnóstico y que los dos eran igualmente sensibles.

Rausch y Kantorovic, en sus informes originales, observaron que los corpúsculos de inclusión eran raramente encontrados en los animales del Artico, aunque Kantorovic informó, en 1964, que en los zorros árticos había encontrado, por primera vez, inclusiones citoplásmicas típicas de los corpúsculos de Negri. Crandall también opina que el virus rábico del Artico es diferente de las cepas de virus calle y de murciélago con las cuales él lo comparó.

La forma furiosa de la enfermedad, observada en perros del norte, era similar a la vista en otras zonas, aunque el período de incubación era corto, variando entre 4 y 14 días, lo cual puede dar razón de la ausencia de corpúsculos de Negri. Esta incubación corta es de especial interés ya que otros investigadores informan en el Artico períodos de incubación que varían de 4-5 días a 2-3 semanas. Muchas cabezas de perros que murieron con síntomas típicos de rabia no contenían virus cuando se las examinó. Crandall examinó 30 cabezas de animales enfermos y sólo 16 fueron positivas para rabia. Lo mismo ocurrió con los zorros; animales con síntomas clínicos de rabia no tenían virus ni corpúsculos de Negri en sus cerebros. Se investigó la posibilidad de que otra enfermedad estuviera actuando en el norte de Groenlandia y los investigadores encontraron anticuerpos de hepatitis canina, pero no anticuerpos para el moquillo (distemper). Su conclusión es que la hepatitis canina puede haber sido la causa de la sintomatología rabiosa observada en algunos perros, teoría difícil de creer a menos que la forma encefalítica de la hepatitis canina sea común en el Artico. Los autores afirman que la ausencia de enfermedad en personas severamente mordidas puede ser explicada por la hipótesis de la hepatitis canina encefálica. Esos hallazgos señalan la necesidad de un diagnóstico diferencial cuando la rabia no es

confirmada. Situaciones similares han sido notificadas en otros países, donde epizootias de moquillo, hepatitis y pseudorabia (enfermedad de Aujeszky) entre perros y encefalitis viral entre gatos, ardillas y otros animales han causado serios errores y confusión. La listeriosis de los zorros puede también causar signos encefalíticos simulando rabia.

La distribución estacional de la rabia parece ser similar a la de las zonas templadas, con la más alta incidencia a fines del invierno y comienzos de la primavera cuando los animales están emigrando. La densidad de población y la migración también contribuyen a repentinos estallidos que llevan a epizootias.

Crandall concluyó que el zorro ártico era probablemente el reservorio de la rabia en Groenlandia, así como en Rusia, Canadá y Alaska. Apoya la premisa en el hallazgo de virus rábico en zorros sanos por Kantorovic y, en un caso, por él mismo. Kantorovic notificó, en 1964⁸, que pudo recobrar virus, frecuentemente, de zorros árticos aparentemente sanos. El porcentaje de aislamientos varió desde 75% durante las epizootias, a 3% durante los períodos interepizooticos. Para un entendimiento epidemiológico de la enfermedad, es importante determinar si esos animales son portadores o están en el período de incubación. Durante esos estudios de los focos naturales de rabia en el norte de Rusia, Kantorovic examinó miles de roedores murinos y 15 armiños, y no encontró evidencia de virus rábico. Concluyó que el zorro ártico era el principal, si no el único, reservorio de virus rábico en el norte. De la evidencia disponible puede deducirse que el zorro ártico desempeña este rol en toda el área circumpolar.

La ausencia de la rabia en la península escandinávica y la mayor parte de Finlandia es explicada sólo por la separación de Noruega y Suecia del Artico por mar abierto (la Corriente del Golfo) la mayor parte del año. La rabia ha estado ausente de esos países por más de 100 años. Estudios recientes sobre animales selváticos de piel valiosa no han revelado evidencia alguna de que la rabia esté presente o latente.

La enfermedad en la zona templada

La rabia en las zonas templadas de América ha estado bajo observación por lo menos desde hace 200 años o más. Los múltiples reservorios naturales diferencian la enfermedad, desde el punto de vista epidemiológico, de la rabia del Artico. El perro fue la principal fuente de enfermedad por muchos años, pero con la práctica exitosa de la vacunación canina ha declinado su importancia; el zorro y el zorrino, en cambio, han venido a ser la fuente principal de la enfermedad, quedando aún por determinarse si ellos son reservorios. No está aún claro si el murciélago insectívoro es importante en el mantenimiento de la enfermedad en la zona templada de América del Norte⁹.

Posiblemente el único lugar del mundo donde la pauta epidemiológica de la enfermedad ártica ha influenciado la de las zonas templadas es Canadá¹⁴. Poco después de la confirmación de rabia en la zona ártica del Canadá, la enfermedad fue observada en la fauna silvestre del sur y del este del país. En pocos años la rabia alcanzó proporciones epizooticas en Alberta (1952), Ontario (1957) y Quebec y las provincias marítimas (1964). La enfermedad ha sido comprobada en una amplia variedad de animales silvestres y domésticos. Aproximadamente el 65% de los casos diagnosticados son en la fauna silvestre, 25% en ganado y 10% en perros. Estos últimos casos son atribuidos, casi en su totalidad, a exposición a los animales salvajes. La rabia es raramente transmitida de perro a perro, pero sí de animales silvestres a perros. La enfermedad en el ganado es igualmente atribuida a animales silvestres rabiosos, principalmente zorros y zorrinos. La rabia de los murciélagos ha sido observada en Canadá desde 1954, y en ningún caso han provocado enfermedad en el hombre o en animales terrestres. En la Columbia Británica, la rabia de los murciélagos ha sido comprobada en forma consistente por más de una década, pero la enfermedad no ha aparecido en ningún otro animal. Parece que el lugar de los reservorios de rabia está ocupado sólo por zorros y zorrinos. La rabia de los zorros no es nueva en Canadá, habiendo sido reconocida desde el siglo XVIII; la rabia de los zorrinos, sin embargo, parece ser una nueva entidad que ha aparecido recién en el siglo presente.

Los Estados Unidos tienen una compleja pauta epidemiológica de la enfermedad. Todo el país tiene el problema de la rabia selvática pero sus características varían de acuerdo con la fauna autóctona. La rabia canina urbana, que el país debió soportar durante la mayor parte del siglo XX, ya no es más un problema, excepto a lo largo de la frontera con México. Puede decirse que la pauta epidemiológica es muy parecida a la de Canadá, excepto por las diferentes especies afectadas. En los Estados del norte y del este, la rabia de los zorros es el principal problema. Igualmente, en los Estados del sur y del centro este, los zorros colorados (*Vulpes fulva*) y grises (*Urocyon cinereoargenteus*), son fuentes importantes de la enfermedad junto con los zorrinos a medida que nos dirigimos hacia el oeste. El Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles ha intentado determinar si el zorro es un reservorio, de acuerdo a la línea seguida por Kantorovic, examinando zorros en períodos epizooticos y pre-epizooticos para medir la actividad del virus. Estos estudios han mostrado que el virus rábico aumenta en cantidad y virulencia hasta la cresta epizootica; luego, la concentración cae abruptamente, lo cual puede relacionarse con el corto período de incubación¹⁵.

Una observación reciente del Laboratorio de Rabia del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles puede echar alguna luz sobre el papel del zorro en el mantenimiento del virus rábico en la naturaleza. El trabajo informa sobre la aparición de rabia en un zorro que estuvo confinado por 13 meses en una jaula, con varios otros zo-

zorros, durante un estudio de vacunación ¹⁶. La vacuna usada era inactivada de tipo Semple, la cual difícilmente podría ser considerada como posible causa de la enfermedad, de manera que la única conclusión es que el animal enfermo había estado expuesto antes de ser capturado y confinado en el laboratorio. Siendo así, el zorro debe ser considerado un reservorio importante del virus que se activa por el tiempo o el stress. Llevar a cabo una experiencia con el objeto de probar la hipótesis de los períodos largos de incubación en el zorro, es difícil pero no imposible. Al tratar de establecer una hipótesis epidemiológica para aclarar la historia natural de la rabia, debe tenerse en cuenta la validez de los largos períodos de incubación como explicación de la latencia interepizootica del virus.

Los estudios de Sikes sobre los niveles de virus rábico necesarios para producir enfermedad, y los títulos del virus diseminado por los animales infectados proporcionan otra observación importante sobre la rabia de los zorros. El zorro es extremadamente sensible al virus rábico cuando se lo expone a virus aislados de glándulas salivales o a aerosoles infectados en cuevas de murciélagos. Sikes ¹⁶ ha publicado estos datos en un trabajo anterior.

Un fenómeno interesante, informado por Sikes, es la relación entre la dosis de virus inoculada y la cantidad de virus recuperado en la saliva. Los zorros infectados con grandes dosis de virus (10^8 DL₅₀ en ratones), tenían períodos de incubación cortos, menos de 18 días, período generalmente considerado demasiado corto para que el virus se establezca en las glándulas salivales. Inóculos más pequeños dieron como resultado períodos de incubación largos, generalmente 38 días o más, y casi todos los animales tenían virus en su saliva (algunos tenían títulos de 10^3 DL₅₀ o más, suficientes para infectar zorrinos, que requieren 100 veces más virus para desarrollar la enfermedad). Estos datos apoyan el concepto de la importancia de las dosis pequeñas de virus para mantener la rabia viva. Concepto éste que no sólo es verdadero para la rabia, sino para muchas otras enfermedades; de otra forma, todos los organismos patógenos hubieran muerto hace tiempo.

El brusco aumento de rabia en zorrinos en algunos Estados, tales como Texas y Tennessee, puede ser explicado por la propagación de los zorros a los zorrinos; sin embargo, hay muchas zonas donde la rabia de los zorrinos parece haber aparecido independientemente de la población de zorros, p. ej. California, las Dakotas, Minnesota e Iowa. El zorrino es un eficaz propagador de la rabia, como lo demuestra el Cuadro II del trabajo de Sikes, eliminando 100 a 1.000 veces más virus en su saliva que el zorro. El enorme aumento de la población de zorrinos en las Américas ha agregado importancia a este reservorio del virus rábico. Las autoridades de conservación, ecólogos y demógrafos, todos creen que la población de zorrinos y zorros, así como de otros animales, está actualmente demasiado alta. Con millones de zorrinos en el continente, un 1% de infección significa un gran reservorio, y en las áreas donde ocurren epizootias, el nú-

mero de animales enfermos puede ser de muchos miles. De manera que el conocimiento de su papel epidemiológico es muy pertinente para el control de la enfermedad.

Johnson ¹⁷ ha observado una cepa de virus de zorrinos manchados no común debido a que ordinariamente produce infección asintomática en ratones adultos inoculados intracerebralmente y en los inoculados intramuscularmente. Ratones jóvenes, infectados por inoculación intracerebral, generalmente mueren a los 16-17 días; algunos, sin embargo, murieron el día 29°. Un ratón joven, inoculado intracerebralmente con virus de origen glándulas salivales se curó después de haber estado paralizado desde el día 16° al 22°. Cuando se lo sacrificó, el día 32°, la prueba de anticuerpos fluorescentes reveló virus rábico.

Johnson ¹⁷ opina que los zorrinos manchados (*Spilogale putorius*) son probablemente los verdaderos reservorios de rabia en el oeste, y que estos animales deben ser estudiados tanto en el laboratorio como en la naturaleza para determinar su rol. Este es el mismo animal que habitaba las Gandes Praderas durante el siglo pasado y que causó tantos sufrimientos entre los hombres y los animales. Se reconoció como un propagador de la rabia y por esa razón se lo llamó "hydrophobia cat".

En California, ambos zorrinos, el rayado (*Mephitis mephitis*) y el manchado (*Spilogale putorius*) existen en igual número, pero los aislamientos de virus de zorrinos rayados excedieron los 1500 durante los últimos años, mientras que se registraron sólo 10 de zorrinos manchados. El virus aislado de los zorrinos manchados ha sido a menudo diferente de otros, con un prolongado período de incubación en ratones; además, los corpúsculos de inclusión difieren de los observados en otros virus rábicos aislados. En esfuerzos subsiguientes para aislar otros virus rábicos de los zorrinos manchados se han encontrado sólo 2 casos, ambos poco comunes, en los que el virus de la glándula salival submaxilar tenía un título de 10^{-7} , cuando se lo probó en ratones jóvenes. El virus aislado de los zorrinos rayados es también diferente: sólo alrededor del 60 % produce corpúsculos de Negri; el 40% restante había sido pasado por alto pues no produjo corpúsculos de inclusión reconocibles, ni enfermedad en ratones adultos. Las pruebas de anticuerpos fluorescentes y de inoculación en ratones jóvenes han hecho posible el reconocimiento de cepas naturales de baja virulencia, las cuales pueden ser las cepas reservorio que mantienen la enfermedad viva.

El virus rábico ha sido aislado de muchos órganos de zorrinos naturalmente infectados incluyendo el cerebro, glándulas salivales, pulmones, páncreas, glándulas mamarias, riñones y tejido muscular. Las glándulas odoríficas, bazo, hígado, nódulos linfáticos e intestinos, en los casos en que se los examinó, no contenían virus.

El virus rábico parece ser un Stomatoviridae y su tropismo para los tejidos respiratorios debe suponerse. Ahora que el virus ha sido aislado de tejido pulmonar, esta ruta de infección y eliminación debe

ser considerada en los zorrinos, zorros, y tal vez otros animales terrestres, así como en los murciélagos.

La aparición de la rabia de los murciélagos en los Estados Unidos es reciente. En 1954, la enfermedad fue notificada en 3 Estados muy separados: Florida¹⁸, Pensilvania¹⁹ y Texas²⁰. Diez años después se la encontraba en la mayoría de los Estados y para 1967 en los 48 Estados continentales. No se ha encontrado rabia en murciélagos en Hawaii, donde no hay rabia, ni en Alaska, donde los murciélagos son raros o desconocidos.

El descubrimiento de la transmisión de la rabia por una vía distinta de la mordedura²¹, es uno de los acontecimientos biológicos más extraordinarios de los últimos tiempos. El hecho de que esta experiencia puede ser repetida, año tras año, con animales altamente susceptibles, tales como zorros y coyotes, durante el mes de julio, cuando hay gran cantidad de murciélagos recién nacidos que someten a las hembras a un gran stress, es un hecho aún más extraordinario. Hay considerable evidencia de que los murciélagos se infectan cuando jóvenes, y la mayoría sobrevive a la infección. Unos pocos desarrollan enfermedad y son los que se encuentran a fines del verano y principios de otoño, paralizados o casi muertos. Aquéllos que sobreviven, o diseminan el virus o lo albergan en la grasa café (zona subescapular), donde permanece durante el invierno. En la primavera, cuando los fetos comienzan a desarrollarse, día a día aumenta el stress de la hembra hasta el momento de la parición. Se piensa que algunos animales se vuelven rabiosos después del stress de la preñez. Probablemente el mayor esfuerzo es realizado durante la lactancia, que da como resultado numerosas infecciones latentes que se convierten en casos activos de rabia, y subsiguientemente propagan el virus. No se sabe cómo el virus es eliminado, pero puede haber más de una ruta. La orina puede ser un vehículo, ya que diagnósticos positivos a la prueba de anticuerpos fluorescentes han sido obtenidos con orina y riñones de murciélagos.

Se sabe que la saliva contiene virus, así como los tejidos respiratorios. Puede ser que algo del virus albergado por las glándulas salivales encuentre su camino a los pulmones, mientras que algo sea eliminado al exterior. Nadie ha observado peleas o mordeduras anormales entre los murciélagos de una colonia o cueva, por consiguiente esa forma de transmisión queda eliminada. La leche de murciélago y las glándulas mamarias han sido examinadas para la presencia de virus rábico por la prueba de anticuerpos fluorescentes, pero no se ha encontrado ninguna evidencia. Durante el año pasado, científicos del Laboratorio para la Investigación de la Rabia del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles han recobrado virus del aire de una cueva donde millones de murciélagos recién nacidos se estaban desarrollando. Después que los murciélagos dejaron la cueva no pudo encontrarse virus, igual que en los años anteriores, cuando se usaban animales centinelas. El virus está presente en el aire de la cueva so-

lamente durante julio y agosto, cuando las crías están sometiendo a las hembras a un gran esfuerzo.

La epidemiología de la rabia de murciélagos que viven en colonias es el único conocimiento sobre la enfermedad en esos animales. La forma en que los murciélagos libres mantienen el virus y lo transmiten entre ellos no se conoce, ni tampoco sabemos si ellos albergan el virus durante el invierno. La historia de la transmisión de la rabia de los vampiros entre ellos mismos es también incompleta, a menos que se acepte la explicación de peleas y mordeduras establecida hace más de 50 años por Carini²².

El papel de los murciélagos insectívoros en el mantenimiento de la rabia en cualquier zona geográfica dada, no parece ser de significación. Las experiencias canadienses desde 1954 son dignas de mención. Ningún caso ha ocurrido en animales terrestres desde que apareció la rabia en los murciélagos en el oeste de Canadá. La misma situación ha sido observada en el noroeste de los Estados Unidos; la rabia de los murciélagos ha sido comprobada en Montana, Idaho, Washington y Oregon, pero no se ha observado ningún foco enzoótico entre los cánidos silvestres o domésticos. La misma situación ha sido notada en otras partes del país, tanto en zonas urbanas como rurales. Si los murciélagos nativos de Canadá y los Estados Unidos fueran un reservorio de virus para la fauna silvestre o para animales domésticos y caseros, habría alguna evidencia.

La cuestión de los roedores como fuente de rabia surge frecuentemente. Una encuesta realizada por Winkler²³, del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, reveló que de los tejidos animales examinados entre 1956 y 1965, menos del 0,5% de los infectados correspondía a roedores, y desde 1961 los hallazgos positivos han disminuido en más de un 43% (Cuadro I). Por más de 20 años no ha habido un solo caso de rabia humana atribuible al ataque de un roedor. Observaciones experimentales indican que la mayoría de los roedores no son particularmente susceptibles a la infección rábica, y aún cuando ellos se infecten, el virus generalmente no invade las glándulas salivales. De manera que el papel de los roedores, incluyendo las ardillas, parece no ser de consecuencias en la epidemiología de la enfermedad. Los conceptos epidemiológicos de la rabia en las zonas tropicales y subtropicales de las Américas no han cambiado durante la pasada década. Debe señalarse que la rabia urbana constituye un importante problema de salud pública en la mayoría de las grandes ciudades de América latina. Mientras que esas epizootias urbanas no sean controladas serán pocas las oportunidades de estudiar las pautas epidemiológicas en esas regiones. El perro juega el mismo papel en las ciudades de América latina que en Estados Unidos hace 25 años. Otros animales domesticados, incluyendo los gatos, son también una fuente de infección en esos países. La rabia selvática existe, pero poco se sabe de su incidencia, distribución, caracterización del virus, y reservorios. El murciélago vampiro, como se estableció an-

tes, es un reservorio de la enfermedad para el ganado y puede serlo para otros animales. Nunca se pondrá demasiado énfasis en la importancia de los murciélagos vampiros (*Desmodus rotundus*) como fuente de infección para el ganado. Otros murciélagos vampiros menos comúnmente afectados son *Diaemus youngi* y *Diphylla ecaudata*.

La encuesta de FAO de 1966²⁴ estableció que posiblemente un millón de cabezas de ganado muere anualmente de rabia transmitida por vampiros en América latina, entre el norte de México y el norte de Argentina. La historia de la rabia de los vampiros en las Américas se remonta hasta 1908, cuando en el sur de Brasil apareció una enfermedad paralítica del ganado, llamada mal de caderas. Se encontró que algunos de los bovinos enfermos tenían virus rábico en sus cerebros, pero la fuente de la infección no se conocía. Más tarde se supo que los campesinos habían observado murciélagos volando en los alrededores durante el día y peleándose entre ellos, y que los animales mordidos por esos murciélagos a menudo desarrollaban enfermedad paralítica y morían. No fue sino en 1916 que el virus de la rabia se aisló de un murciélago capturado mordiendo animales durante el día. Más tarde, en Brasil, ocurrieron epidemias en el ganado y el murciélago vampiro fue incriminado como la fuente del virus rábico. Luego se descubrió que el murciélago vampiro (*Desmodus rotundus*) podía transmitir el virus por muchos meses en estado de portador asintomático. La enfermedad no era conocida fuera de la parte continental de Sudamérica hasta 1925, época en que se encontró virus rábico en vampiros en Trinidad. Se presume que la epizootia de Trinidad se introdujo desde la parte continental. La enfermedad de los vampiros fue comprobada, por primera vez, en América del Norte, en México, Estado de Michoacán, en un establecimiento donde el ganado estaba muriendo de derriengue o fiebre del litoral, una enfermedad paralítica conocida en el oeste del país desde 1910. El virus rábico fue aislado de uno de los bovinos infectados, y así se probó que el derriengue era rabia paralítica transmitida por el murciélago vampiro²⁵.

Desde que la enfermedad fue descubierta, ha aparecido en todos los países de América Central y del Sur, excepto Chile, Uruguay y Perú. Nunca se han visto vampiros en los Estados Unidos, Canadá o las Indias occidentales excepto Trinidad, que está cerca del continente. En Perú y Chile hay vampiros, pero no tienen rabia. Un rasgo epizootiológico importante de la enfermedad es que en las primeras infecciones observadas en murciélagos hace 30-50 años, muchos de los animales aparecían bastante anormales, lo cual sugiere que ésa era la primera experiencia de los murciélagos vampiros con la rabia. Subsiguientemente, la enfermedad ha venido causando menos anomalías en los murciélagos, pero continúa siendo mortal para el ganado. La rabia de los murciélagos vampiros no parece depender de una conducta anormal para perpetuarse, y ahora está viviendo en

equilibrio con su huésped; cómo se propaga entre los vampiros sigue siendo una pregunta sin respuesta.

En América tropical, aparte de los murciélagos vampiros no hay ningún animal autóctono importante actuando como reservorio o diseminador de rabia. La mangosta (*Herpestes nyula*) fue introducida en las Indias occidentales a mediados del siglo XIX por los plantadores de caña de azúcar para destruir víboras y ratas. Las mangostas han tenido bastante éxito en eliminar las víboras de Puerto Rico, pero evitan las ratas. La mangosta prefiere los huevos, aves, lagartijas, sapos, insectos y peces, a los roedores que son cazados sólo por necesidad. La historia de la rabia de las mangostas en las Américas se centraliza en las Indias occidentales, encontrándose en Puerto Rico²⁶, Cuba, Granada, y posiblemente Jamaica y la República Dominicana. No hay evidencia de que la mangosta se haya establecido en la parte continental de las Américas.

Los primeros conocimientos de rabia en la mangosta vienen del este de Cuba, donde fue reconocida en la primera parte del siglo XX. En Puerto Rico no se descubrió hasta 1950, cuando Tierkel y col.²⁷ probaron que la mangosta era bastante susceptible a la infección y que cuando estaba enferma era anormalmente agresiva. Toro²⁸ describió la mangosta normal como un cazador diurno que evita los lugares habitados por el hombre, y emigra periódicamente a nuevas zonas de caza. Prefieren las zonas marginales de transición, adyacentes a las tierras cultivadas. La mangosta rábida presenta encefalitis, como otros animales terrestres, con los cambios usuales de conducta. Pierde su miedo al hombre y animales domésticos y busca alimentos y agua en los patios de las granjas, o aún en las comunidades urbanas. A veces resultan "simpáticas", sentándose igual que las ardillas. Generalmente, los chicos son los primeros en notar la presencia de la amigable mangosta, y cuando se acercan al animal, son atacados. Se han encontrado mangostas rábidas en casas, graneros, depósitos, automóviles, maquinaria agrícola, letrinas y pequeños matorrales en los jardines, lugares que ellas normalmente evitan. Cuando una mangosta rábida ataca, muerde profundamente y no suelta a la persona o el animal hasta que esté muerto o sin sentido. Los bovinos, cuando son atacados en el campo, generalmente reciben mordeduras en el hocico o en la cara. El perro que lucha con una mangosta rábida generalmente es mordido en la cara.

La aparición reciente de rabia en mangostas en Puerto Rico y otras islas de las Indias occidentales, es difícil de comprender. La enfermedad había estado presente, posiblemente desde 1841, de acuerdo a las medidas que se tomaban para controlar la rabia canina. La enfermedad fue diagnosticada en forma esporádica hasta 1934. De 1934 a 1950 no hubo casos de rabia en Puerto Rico, pero a partir de esa fecha ha sido identificada en muchas especies (Cuadro II). No es posible explicar por qué la enfermedad no se estableció en las mangostas durante el período enzoótico previo a 1934; tampoco se sabe

por qué la rabia de las mangostas ha permanecido en provincias del este de Cuba, y no se propagó a la parte occidental de la isla. La epizootia reciente en Granada es otro enigma epidemiológico. Debe señalarse que en Sud Africa y Rodesia la mangosta amarilla se considera un huésped reservorio de la rabia²⁹.

Puede haber otros reservorios animales en la América tropical, pero hay poca o ninguna información sobre ellos. En resumen, la epidemiología de la rabia en las Américas da lugar a numerosas observaciones que deben ser consideradas en cualquier programa de control:

1) El perro sigue siendo el vector más importante de la enfermedad en las comunidades urbanas y aún provoca más casos de rabia humana que ningún otro animal. En las zonas rurales, el perro es también un diseminador importante de la enfermedad, excepto en los Estados Unidos y Canadá.

2) El zorro puede ser el reservorio básico de rabia junto con el zorrino, en ciertas zonas donde ambos animales son autóctonos. Los largos periodos de incubación y los cambios cíclicos en la virulencia del virus pueden explicar las epizootias periódicas con intervalos en los cuales el virus permanece latente por algunas generaciones, para reganar luego virulencia. La densidad de población de los huéspedes selváticos tiene, sin duda, una importante conexión con la duración de la epizootia y de los periodos inter-epizoóticos. Parece que la relación puede ser directa y causal, pero se necesitan más evidencias.

3) El zorrino, en los Estados Unidos, tiene ciertamente un importante papel en el mantenimiento de la enfermedad en la naturaleza. Los datos recogidos en los últimos años sobre la variación de la virulencia del virus en esos animales, son sumamente interesantes; el problema debe ser más estudiado, tanto en el campo como en el laboratorio, en América del Norte y en América del Sur.

4) En los Estados Unidos y Canadá, así como en otros países americanos, los murciélagos insectívoros no pueden ser considerados como reservorios básicos de la rabia con la evidencia reunida hasta el momento, pero son causa de enfermedad para el hombre y para los animales; de manera que, desde un punto de vista sanitario, son importantes.

5) Los vampiros de América tropical son quizás los más importantes reservorios de rabia en las Américas. Se ha estimado que en América latina casi un millón de cabezas de ganado mueren anualmente por rabia transmitida por los vampiros³⁰. Esta enfermedad debe ser considerada como el más serio problema de sanidad animal que la América latina enfrenta hoy día. Las pérdidas económicas directas exceden los 100.000.000 de dólares anualmente, y las pérdidas indirectas, incluyendo malnutrición, llegan a los 250.000.000 de dólares. La enfermedad parece estar en aumento. La creciente industria

ganadera provee cada vez más víctimas para que mayores poblaciones de vampiros puedan alimentarse. No se conoce el número de personas que mueren por mordeduras de vampiros, pero cuando uno recuerda la epidemia de Trinidad de 1920-1930, los aspectos de salud pública no pueden ser pasados por alto.

Aparentemente, el murciélago frugívoro tropical raramente se infecta, y no desempeña ningún rol en la epidemiología de la rabia.

6) La mangosta ciertamente es un reservorio en algunas de las islas de las Indias occidentales, especialmente Puerto Rico, y debe ser tratada como tal en los programas de control. Con respecto a otros animales terrestres, incluyendo los roedores, no hay razón para creer que formen parte del ciclo epizootico o epidémico, como lo conocemos actualmente.

CONTROL

Los programas de control deben ser establecidos en base a los hallazgos epidemiológicos. La certeza de esta afirmación se ha puesto en evidencia en la mayoría de las campañas exitosas, como así mismo por el fracaso en el control de epidemias cuyas pautas no eran conocidas. Las medidas de control deben ser adecuadas a las poblaciones humanas y animales afectadas, su estructura socio-económica y cultural, las características del virus, reservorios conocidos, y educación sanitaria de la comunidad. Y lo que es más importante, la disponibilidad de vacunas antirrábicas potentes y seguras, tanto para el hombre como para los animales, a un precio razonable.

Vacunas

Los estudios sobre la posibilidad de vacunar a los perros contra la rabia comenzaron hace unos 100 años, en el Colegio de Veterinaria de Lyon, bajo la guía de Balard. Pasteur, el primero en demostrar que los perros podían ser inmunizados exitosamente contra la rabia³¹, había estudiado con Balard por un corto tiempo antes de ir a París. La vacuna de Pasteur fue hecha de médula espinal con virus que había sido modificado o fijado por una serie de pasajes por cerebros de conejos, y atenuado además por desecación a temperatura ambiente sobre hidróxido de potasio. Los perros fueron protegidos de la rabia por 10 dosis diarias, por vía subcutánea, del virus atenuado graduado por pruebas de virulencia en conejos inoculados intracerebralmente. Lamentablemente este procedimiento era muy caro y demandaba mucho tiempo, pues el perro tenía que ser conducido al laboratorio diariamente para las inyecciones; sin embargo, a partir de esos primeros ensayos evolucionó la primera vacuna humana exitosa. No se pensó más en la inmunización canina hasta que apareció la vacuna fenolada de Fermi³³, modificada por Semple³². El primer ensayo de campo extensivo fue realizado en Japón, en 1918-20, por Umeno³⁴. Durante una epizootia de rabia en Tokyo, miles de perros fueron va-

cunados con una sola inyección de vacuna preparada de cerebro y médula espinal de conejos muertos de rabia por virus fijo, e inactivada con fenol 1,25 %. Se inmunizaron 255.000 perros durante el estudio, 175 de los cuales (0,08 %) murieron más tarde de rabia. Durante el mismo período, 2.860 perros no vacunados fueron diagnosticados como rábidos. Estas observaciones llevaron a la introducción en los Estados Unidos, en 1922 ³⁵, de la vacuna antirrábica inactivada por fenol para uso canino. La vacuna comenzó a prepararse comercialmente y durante el final de la década del 20 fue usada en forma bastante amplia. Muchas comunidades llevaron a cabo programas de inmunización masiva, algunos de los cuales tuvieron éxito y otros fallaron. Pronto se hizo evidente que los resultados no eran consistentes, y dejaban mucho que desear. En 1930 se sospechó que a la vacuna le faltaba antigenicidad. Esta sospecha no se comprobó hasta que Webster ³⁶ demostró en ratones de laboratorio que a la mayoría de las vacunas antirrábicas comerciales usadas para perros, así como a las preparadas para uso humano, les faltaba antigenicidad. Fue un gran golpe para la profesión veterinaria y oficiales de salud pública, pero atrajo la atención hacia el problema. Habel ³⁷ confirmó los hallazgos de Webster y desarrolló una técnica para probar la potencia de la vacuna; es la bien conocida prueba de Habel.

De los estudios de Habel se hizo evidente que muchas de las cepas usadas para la producción de vacuna no eran suficientemente potentes ³⁸. Muchas de esas cepas derivaban del virus fijo de Pasteur. Además, se hizo evidente que las cepas habían cambiado en el curso de la propagación, al emplearse diferentes animales y métodos, y ya no eran útiles para la producción de vacuna. Hoy día, las agencias gubernamentales de control exigen que en la producción de vacuna se empleen sólo cepas de virus potentes y que cada lote del producto final sea probado en su antigenicidad.

El manejo de la vacuna, sea inactivada o viva, afecta por supuesto su valor. La vía de inoculación es también importante: el método subcutáneo ha sido usado ampliamente, pero es aparente que la inoculación intramuscular da mejor protección ³⁹ y una inmunidad más prolongada.

Algunos intentos para desarrollar otras vacunas antirrábicas de tejido nervioso inactivadas por cloroformo, éter o irradiación ultravioleta resultaron exitosos en el terreno experimental, pero fallaron comercialmente. Kelsner ⁴⁰, desarrolló una vacuna eficaz, inactivada con cloroformo, a fines de la década del 20, la cual se probó con buenos resultados en las Filipinas, donde fue producida bajo su supervisión, pero no se pudo producir con éxito comercialmente. Más tarde se descubrió que el conglomerado de tejido nervioso no dejaba penetrar el cloroformo, impidiendo alcanzar el virus que quedaba sin atenuarse. Las vacunas de éter fallaron por la misma razón. Actualmente, esto podría prevenirse probablemente con homogeneizadores efectivos y agitadores mecánicos. La irradiación ultravioleta inactiva

exitosamente al virus rábico fijo de tejido nervioso, pero las vacunas irradiadas, aunque inmunogénicas, han tenido poco uso en la vacunación de perros u otros animales, y del hombre. El principal inconveniente es la poca duración de la inmunidad, por lo cual se requieren revacunaciones anuales. Además, las vacunas de tejido nervioso a veces han causado parálisis postvacunal⁴¹. La tasa de tales accidentes puede ser hasta de 1 en 1000 con vacunas de tejido nervioso tratadas con fenol, y más alta con tejido nervioso inactivado por rayos ultravioleta.

El advenimiento de la vacuna antirrábica viva comenzó con la adaptación de la cepa Flury a pollitos de un día y más tarde a huevos embrionados. Johnson aisló la cepa Flury de una muchacha que murió de rabia luego de una exposición poco usual, en la cual no hubo evidencia de mordedura pero sí historia de lamedura de las mucosas⁴². El virus fue pasado 136 veces intracerebralmente por pollitos de un día. Más tarde, Koprowski y Cox⁴³ propagaron la cepa Flury en embriones de pollo. El virus con 40-50 pasajes por embrión de pollo fue designado LEP (bajo pasaje), encontrándose que era avirulento para los perros cuando se los inyectaba parenteralmente⁴⁴. Posteriores experiencias con perros demostraron que éstos desarrollaban buena inmunidad, de larga duración. Los resultados de 3 años de estudio sobre la duración de la inmunidad probaron que la vacuna viva protege más tiempo que las vacunas inactivadas³⁹.

La vacuna antirrábica viva LEP de uso canino ha sido empleada con gran éxito desde la terminación del estudio del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles en 1953. Numerosas demostraciones en los Estados Unidos y en el extranjero han confirmado su inocuidad y eficacia. Ha continuado siendo usada en la práctica veterinaria de rutina y en las campañas de vacunación. Pero, como con otras vacunas, había problemas. Por ejemplo, se notó que los cachorros menores de 11 semanas de edad no respondían tan bien como los animales más grandes⁴⁵ y que podía causar encefalitis en cachorros de menos de 3 semanas de edad. Actualmente, la vacuna LEP no es recomendada para animales de menos de 3 semanas de edad.

Probablemente uno de los principales problemas fue la viabilidad de las vacunas vivas. Dean⁴⁶ encontró que muchas vacunas LEP, obtenidas de veterinarios y proveedores, no eran tan potentes como en el momento de su producción. Se descubrió que el problema era debido a estabilizadores pobres agregados para mantener la viabilidad de la vacuna⁴⁷. La importancia de los estabilizadores en el mantenimiento de la potencia de la vacuna nunca se subyará demasiado; esto también será valioso para las vacunas de cultivo de tejido recién desarrolladas.

Con las vacunas LEP mejoradas, libres de restos de tejido extraño, se encontró que dosis más pequeñas conferían la misma protección que dosis mayores de las anteriores vacunas preparadas con suspensiones de embrión de pollo al 33%. La suspensión de embrión

de pollo infectado fue reducida a 20% por leve centrifugación. Esas vacunas continuaron pasando la prueba de potencia. Experiencias en perros mostraron que una dosis de 2 ml. de la suspensión al 20% era eficaz. Actualmente es la dosis estándar para las vacunas LEP.

Dean ⁴⁶ encontró que los títulos de vacuna al 33% variaban entre 80.000 y 2.000.000 de DL_{50} (dosis letales) para ratones; la variación es menor para la de 20%: entre 200.000 y 630.000 DL_{50} para ratones. Los valores medios son, sin embargo, bastante similares para las dos vacunas: 500.000 DL_{50} en ratones para la de 33% y 400.000 DL_{50} en ratones para la de 20%. El valor medio de la preparación al 33% fue 7 veces la DE_{50} (dosis efectiva), y el valor medio del material al 20% fue 6 veces la DE_{50} necesaria para inmunizar perros. El valor de las vacunas puras ha continuado impresionando a todos los trabajadores relacionados con el problema. Sikes ⁴⁸ ha demostrado esto en forma más concluyente, con un antígeno purificado cuyo índice de protección fue 10 veces más alto que el de las mejores vacunas de tejido.

El advenimiento de los cultivos de tejido para el estudio del virus, y la adaptación del virus rábico ⁴⁹ a riñón de hamster recién nacido naturalmente llevó al desarrollo de vacunas inactivadas y vivas en una variedad de sistemas de cultivo de tejido se incluye la cepa de perro rábico de Connaught adaptada a riñón de hamster, luego a cultivo de tejido de riñón de cerdo ⁵⁰. Esta cepa se denominó ERA en el pasaje 6°. La cepa ERA es patógena para los ratones, cobayos y hamsters por inoculación intracerebral, pero tiene un bajo grado de virulencia por la vía intramuscular. Es avirulenta para los animales domésticos, por vía intramuscular. Una sola dosis es eficaz para proteger perros, bovinos y ovinos contra la rabia, así como gatos, cabras y caballos. La confrontación dio como resultado 95-100% de mortalidad en los controles no vacunados. La duración de la inmunidad se ha mostrado buena durante 2 años en perros y 3 años en bovinos ⁵¹.

Kissling informó sobre la eficacia de la vacuna antirrábica preparada con virus fijo propagado en cultivo de tejido de riñón de hamster recién nacido ⁵².

Ott informó sobre experiencias con una nueva vacuna de cultivo de tejido en células de hamster ⁵³. Se usa virus fijo de origen ratón CVS y es una vacuna viva. Ott indica que la vacuna de células de riñón de hamster puede ser eficaz ya sea como inactivada o como viva atenuada y que reducirá las reacciones postvacunales al mínimo.

Cabasso y col. han desarrollado una vacuna de cultivo de tejido de embrión de pollo ⁵⁴ que ha sido evaluada en cobayos y perros. Los resultados indican que la vacuna LEP preparada en cultivo de tejido de embrión de pollo protegerá a los perros en una forma comparable a la vacuna LEP producida en huevos embrionados. Los perros recibieron una dosis de 2 ml. de la vacuna de cultivo de tejido y resistieron la confrontación 1 año más tarde. Los perros están siendo con-

frontados ahora a los 3 años. Informes preliminares indican que los animales están resistiendo la confrontación ⁵⁵.

En resumen, hay evidencia de que las vacunas originadas en cultivo de tejido son iguales a los productos de origen embrión de pollo; sin embargo, la duración de la inmunidad debe ser determinada antes de que se tome una decisión final. El Comité de la OMS de Expertos en Rabia, en su 5º Informe, 1966, aconseja a las autoridades reservar su juicio hasta que las nuevas vacunas de cultivo de tejido hayan sido sometidas a pruebas de laboratorio y de campo. Otro problema que enfrentan muchas naciones es la parte económica de la producción de vacuna. Este es un problema que las autoridades de Salud Pública de cada país deben determinar. El costo de la vacuna puede ser alto, especialmente si la potencia y seguridad son desconocidas.

Poblaciones amenazadas

La más importante población en peligro es la humana, pero otros grupos deben ser considerados. El hombre puede ser protegido una vez expuesto, o vacunado antes de la exposición, cuando el riesgo lo justifica. Con el desarrollo de vacunas potentes e inocuas para uso humano puede no estar lejano el día en que las autoridades sanitarias recomendarán la protección pre-exposición para todo el mundo.

Los perros son los segundos en importancia, a causa de su estrecha relación con el hombre y sus posibilidades de transmitir la enfermedad. En cualquier campaña antirrábica es muy importante tener una estimación razonable de la población canina ⁵⁶ y de qué porcentaje puede ser vacunado por medios privados y cuántos deberán ser vacunados por las agencias públicas. Además, debe conocerse cuál es la población de perros callejeros. Una relación razonable de la población canina en las áreas urbanas es un perro por cada 10 personas. En las zonas rurales las cifras pueden ser uno a cinco, teniendo en cuenta muchas variables, tales como alimento, desperdicios de los mataderos, enfermedades autóctonas, animales de rapiña, insectos venenosos y víboras.

El alimento es naturalmente el punto principal; si uno no alimenta a los animales, ellos no se multiplicarán ni sobrevivirán. La disponibilidad de alimentos está directamente relacionada con el estado económico de una comunidad. Los desperdicios de alimento de una comunidad pueden alimentar una población canina determinada. Los desperdicios de los mataderos son importantes en las pequeñas ciudades; pueden mantener cientos de perros que están en competencia con otros animales basureros. La enfermedad es también un factor limitativo importante: el moquillo (distemper) y la hepatitis son factores limitantes importantes de una población canina. Las enfermedades parasitarias, incluyendo enfermedades transmitidas por insectos, son especialmente importantes en los climas cálidos. El auto es otro factor limitativo de las poblaciones caninas. En las ciudades americanas se estima que del 10 al 20% de la población canina con dueño

es herida o matada por vehículos automotores anualmente. El número de perros callejeros muertos es probablemente el doble que el de los perros con dueño. Los animales de rapiña, víboras e insectos venenosos son factores limitantes en algunos lugares, pero son de poca importancia comparados con los factores anteriores.

En raras ocasiones otros animales urbanos pueden ser importantes en el control de la rabia. Los gatos han sido citados como fuentes de infección en algunas comunidades, pero raramente son incriminados independientemente de los perros. Los gatos rábidos son animales anormalmente peligrosos. Las ardillas han sido también asociadas con epizootias de rabia, pero en la mayoría de los casos las ardillas enfermas sufren formas de encefalitis diferentes de la rabia. Los roedores raramente son afectados y casi nunca deben ser considerados en una campaña de control de la rabia, aunque algunas personas y sociedades pueden desear involucrarlos para desviar la atención de los perros y de los gatos.

En las zonas rurales y suburbanas, la fauna silvestre es una fuente primaria de rabia y deben realizarse esfuerzos tendientes a determinar el papel de las diferentes especies. En los Estados Unidos el zorro es el más frecuentemente identificado como fuente de enfermedad. El zorrino, así mismo, puede vagar por las zonas urbanas, especialmente en ciudades extensas que tienen zonas inhabitadas o parcialmente ocupadas. Los Angeles es un ejemplo de una comunidad donde la rabia en zorrinos es autóctona. Otros animales salvajes parecen ser de poca importancia como reservorios.

La estructura socio-económico-cultural de una comunidad o país es importante en el planeamiento de los programas de control. Los factores socio-económicos han sido ya discutidos pero debe mencionarse también la vivienda. Las casas pobres, los barrios bajos y los ghettos tienen tradicionalmente grandes poblaciones de perros vagabundos así como gatos y ratas en gran número. Las costumbres y tabúes religiosos son de gran significación en muchos países, donde los animales son vistos como la residencia temporal de las almas humanas que están en el limbo. Los encargados de la captura de perros y los oficiales de control tienen un difícil rol en cualquier parte que estén, pero son muy importantes en toda campaña de control de la rabia y necesitan completo apoyo, así como una compensación adecuada por sus esfuerzos.

Los problemas relacionados con la caracterización del virus y de los reservorios han sido discutidos en la parte de epidemiología, pero es importante que sean de nuevo subrayados en esta sección de programas de control. Ningún programa puede tener éxito si los reservorios de la rabia son desconocidos, o si no se conoce la cinética de los virus. Una comprensión de las características del virus puede casi determinar el curso de una campaña de control.

En las Américas, los murciélagos portadores de rabia tienen diferentes grados de significación en las zonas templadas y tropicales.

Como se afirmó antes, los murciélagos en Canadá y los Estados Unidos son motivo de atención pero no reservorios importantes o causas de la enfermedad. En cambio en las zonas tropicales, la rabia de los vampiros es un problema importante para el cual no hay respuesta satisfactoria disponible. El control de la rabia de los vampiros es probablemente la mayor preocupación que las autoridades de sanidad animal están enfrentando hoy día.

Finalmente, ¿cuál es el "status" de la educación sanitaria? ¿Qué sabe la población sobre la rabia? ¿Conocen el problema? ¿Desean hacer algo sobre ello? ¿Creen en la vacunación? ¿Pagarían por ella? ¿Cómo sienten sobre el control de los animales vagabundos? ¿Podrían establecerse impuestos para el mantenimiento de perreras? Estas y otras preguntas y sus respuestas deben ser evaluadas por los encargados de control. Un programa de educación bien planeado puede asegurar el éxito de un esquema de control de la rabia. Sin educación sanitaria del público, habrá poco apoyo de la comunidad y la mayoría de las campañas estarán destinadas al fracaso. La oposición a la vacunación contra cualquier enfermedad es bien conocida, especialmente en las zonas subdesarrolladas donde las vacunas no son todo lo que debieran ser.

Una comunidad preparada es como una mente preparada, puede aprovechar la oportunidad cuando aparece. Es fundamental que los dirigentes de las comunidades comprendan por qué el control de la rabia es importante para ellos, sus familias, animales y su prosperidad.

CUADRO I

Rabia en roedores y otras especies

Estados Unidos 1956 - 1965

Años	Roedores	Total de animales	Porcentaje de roedores
1956-1960	128	22.972	0.56
1961-1965	71	20.490	0.35
TOTAL	199	43.462	

NOTA: En los dos períodos indicados, hay una disminución del 41% en el total de casos de rabia, y del 43% en la rabia en roedores durante la segunda mitad de la década.

CUADRO II

Rabia animal en Puerto Rico

1950 - 1965

ESPECIE	1950	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	Total	%
Mangostas	12	41	40	37	21	16	5	8	40	15	21	18	13	11	17	12	297	56
Bovinos	5	12	10	9	9	3	5	5	2	4	6	6	2	3	2	3	86	17
Caninos	10	19	8	11	2	4	3	7	3	1	4	1	4	5	7	1	81	15
Equinos	0	5	4	4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	0	2	0	27	5
Felinos	1	0	1	1	0	0	2	0	0	2	3	2	1	1	4	2	20	40
Porcinos	2	2	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	9	2
Caprinos	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	7	1
TOTAL	30	73	65	62	34	26	18	21	17	24	35	29	21	21	33	18	527	100

REFERENCIAS

- ¹ Smithcor, J.F. Evolution of the veterinary art. Chapters 1-7, p. 1-299. Veterinary Medicine Publishing Co., Kansas City, 1957.
- ² Plummer, P.J.G. Preliminary note on arctic dog disease and its relation to rabies. *Canad. J. comp. Med.*, 11: 154-160, 1947.
- ³ Plummer, P.J.G. Further notes on arctic dog disease and its relation to rabies. *Canad. J. comp. Biol.*, 11: 330-334, 1947.
- ⁴ Williams, R.B. Epizootic of rabies in interior Alaska, 1945-1947. *Canad. J. comp. Med.*, 13: 136-143, 1949.
- ⁵ Rausch, R. Some observations on rabies in Alaska, with special reference to wild canidae. *J. Wildl. Manag.*, 22: 246-260, 1958.
- ⁶ Kantorovic, R.A. The etiology of madness in polar animals. *Acta Virol.*, 1: 220-228, 1957.
- ⁷ Kantorovic, R.A.; Konvalov, G.V.; Buzinov, I.A.; Rintova, V.P. Experimental investigations into rage and rabies of polar foxes, natural hosts of the infection. *Acta Virol.*, 7: 554-560, 1963.
- ⁸ Kantorovic, R.A. Natural foci of a rabies-like infection in the Far North. *J. Hyg., Epidemiol., Microb., Immunobiol.*, 7: 100-110, 1964.
- ⁹ Johnson, H.N. Rabies in insectivorous bats of North America. *Proc. 6th. Intern. Congr. Trop. Med. and Malaria*, 5: 559-567, 1959.
- ¹⁰ Wamberg, K. Rabies in Greenland. *Nord. Vet. Med.*, 12: 769-796, 1960.
- ¹¹ Jenkins, M.; Wamberg, K. Rabies discovered in Greenland. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 137: 183-185, 1960.
- ¹² Lassen, H.C.A. Paralytic human rabies in Greenland. *Lancet*, 1: 247-249, 1962.
- ¹³ Crandall, R.A. Rabies in Northern Greenland: some observations in the epizootiology and epidemiology. *Proceedings Nat. Rabies Symposium*, NCDC, Atlanta, Georgia, May 5-6, 1966, p. 37-42.
- ¹⁴ Moynihan, W.A. Rabies in Canada. *Proceedings National Rabies Symposium*, NCDC, Atlanta, Georgia, May 5-6, 1966, p. 134-136.
- ¹⁵ Kissling, R. y col. Investigaciones del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, 1955 (No publicadas).
- ¹⁶ Sikes, R.K. Pathogenesis of rabies in wildlife. I. Comparative effect of varying doses of rabies virus inoculated into foxes and skunks. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 1041-1047, 1962.
- ¹⁷ Johnson, H.N. Sporadic cases of rabies in wildlife: relation to rabies in domestic animals and character of virus. *Proceedings National Rabies Symposium*, NCDC, May 1966, p. 25-30.
- ¹⁸ Vetters, H.D.; Hoffert, W. R.; Scatterday, J.E.; Hardy, A.V. Rabies in bats in Florida. *Amer. J. publ. Hlth.*, 44: N° 2, Feb. 1954.
- ¹⁹ Witte, E.J. Bat rabies in Pennsylvania. *Amer. J. publ. Hlth.*, 44: 186-187, 1954.
- ²⁰ Sullivan, T.D. y col. Recovery of rabies virus from colonial bats in Texas. *Publ. Hlth. Rep.*, (Wash.) 69: 766-768, 1954.
- ²¹ Constantine, D. Rabies transmission by non-bite route. *Publ. Hlth. Rep.*, (Wash.) 77: 287-289, 1962.
- ²² Carini, A. Sur une grande épizootie de rage. *Ann. Inst. Pasteur*, 25: 843-846, 1911.
- ²³ Winkler, W.G. Rodent rabies. *Proceedings National Rabies Symp.*, NCDC, Atlanta, Ga., May 1966, p. 34-36.

- ²⁴ FAO Survey of Paralytic Rabies in Latin America, March 1966.
- ²⁵ Johnson, H.N. Derriengue: vampire bat rabies in Mexico. *Amer. J. Hyg.*, 47: 189-204, 1948.
- ²⁶ Acha, P.N. Comunicación personal, 1967.
- ²⁷ Tierkel, E.S.; Arbona, G.; Rivera, A.; de Juan, A. Mongoose rabies in Puerto Rico. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 67: 274-278, 1952.
- ²⁸ Toro, E.E. Rabies in Puerto Rico. *Proceedings National Rabies Symp.*, NCDC, Atlanta, Ga., May 1966, pp. 131-133.
- ²⁹ Tierkel, E.S. Rabies. En: *Advances in Veterinary Science*, Vol. V. Academic Press, New York, 1959, p. 183.
- ³⁰ Acha, P.N. Rabies in the Americas. *Proceedings National Rabies Symp.*, NCDC, Atlanta, Ga., May, 1966, p. 140-142.
- ³¹ Pasteur, L.; Chamberland, C.E.; Roux, M. Nouvelle communication sur la rage. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 98: 457-884.
- ³² Semple, D. Science memorandum. Medical Sanitary Department, Calcutta, India, N° 44, 1911.
- ³³ Fermi, C. *ZentralBakt., Parasit. Abt. Ref.* 49: 52 and *Ref.* 52: 536, 1909.
- ³⁴ Umemo y Doi. *Kitasato Arch. exp. Med.*, 4: 89, 1921.
- ³⁵ Eichhorn, E.; Lyon, B.M. Prophylactic vaccination of dogs against rabies. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 61: 38-42, 1922-23.
- ³⁶ Webster, L.T. A mouse test for measuring the immunizing potency of antirabies vaccines. *J. exp. Med.*, 70: 87-106, 1939.
- ³⁷ Habel, K. Factors influencing the efficacy of phenolized rabies vaccines. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 55: 1619, 1940.
- ³⁸ Habel, K. Evaluation of a mouse test for the standardization of the immunizing power of antirabies vaccines. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)* 55: 1473-1487, 1940.
- ³⁹ Tierkel, E.S.; Kissling, R.E.; Eidson, M.; Habel, K. A brief survey and progress report of controlled comparative experiments in canine rabies immunization. *Proc. 90th Meet. Amer. vet. med. Ass.*, p. 443, 1953.
- ⁴⁰ Kelsner, R.A. Chloroform-treated rabies vaccine (preliminary report). *Vet. Bull.*, 22: 95, 1928.
- ⁴¹ Burkhart, R.L.; Jervis, G.A.; Koprowski, H. Post-vaccinal paralysis and demyelination in the dog following antirabies vaccination. *Vet. Med.*, 45: 31, 1950.
- ⁴² Johnson, H.N. Rabies virus. En: *Viral and rickettsial infections of man*. 4. ed. Horsfall and Tamm, eds. Lippincot, Philadelphia, 1965.
- ⁴³ Koprowski, H.; Cox, H.R. Studies on chick embryo adapted rabies virus. *J. Immunol.*, 60: 533, 1948.
- ⁴⁴ Koprowski, H.; Black, J. Studies on chick embryo adapted rabies virus. II. Pathogenicity for dogs and use of egg-adapted strains for vaccination purposes. *J. Immunol.*, 64: 185, 1950.
- ⁴⁵ Kacberle, M.L. Newer tools for the prevention of rabies in domestic animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 70, art. 3: 467, 1958.
- ⁴⁶ Dean, D.J.; Evans, W.M.; Thompson, W.R. Studies on the low egg passage Flury strain of modified live rabies virus produced in embryonating chicken eggs and tissue culture. *Amer. J. vet. Res.*, 25: 756, 1964.
- ⁴⁷ Peacock, G.V. Discussion canine rabies vaccine. *Proceedings Nat. Rabies Symp.*, NCDC, Atlanta, Ga., May 1966, p. 54-55.
- ⁴⁸ Sikes, R.K.; Larghi, O.P. Purified rabies vaccine: development and comparison of potency and safety with two human rabies vaccines. *J. Immunol.*, (en prensa).

⁴⁹ Kissling, R.E. Growth of rabies virus in non nervous tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* (N.Y.) 98: 223-225, 1958.

⁵⁰ Abelseth, M.K. An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. *Canad. vet. J.*, 5: 279-286, 1964.

⁵¹ Abelseth, M.K. Vaccination of domestic animals with a rabies vaccine produced in tissue culture from the ERA strain. *Proceedings National Rabies Symp.*, NCDC, May 1966, p. 53.

⁵² Kissling, R.E.; Reese, D.R. Antirabies vaccine of tissue culture origin. *J. Immunol.*, 91: 362-368, 1963.

⁵³ Ott, G.L.; Heyke, B. Propagation of rabies virus; evaluation of a vaccine. *Vet. Med.*, 57: 613-616, 1962.

⁵⁴ Cabasso, V.J.; Stebbins, M.R.; Douglas, A.; Sharpless, G.R. Tissue culture rabies vaccine (Flury LEP) in dogs. *Amer. J. vet. Res.*, 26: 24-32, 1965.

⁵⁵ Cabasso, V.J. Canine rabies vaccines. *Proceedings National Rabies Symp.*, NCDC, Atlanta, Ga., May 1966, p. 45-51.

⁵⁶ NCDC Interoffice Memorandum. Subj.: Atlanta Rabies Survey, Arthur Cohen, January 29, 1959.

Comentarios

DR. MORA — Yo quisiera presentarles un trabajo que se ha realizado en Chile durante los últimos dos años, investigando y analizando la información recogida por el Instituto Bacteriológico de Chile durante 30 años de diagnóstico de rabia. Este trabajo fue realizado en colaboración con los Dres. Vera, Scozia, Montes e Hidalgo. Como una pequeña introducción, quisiera dar lectura a unas palabras registradas por Darwin en su "Viaje de un naturalista alrededor del mundo", quien en junio de 1835 visitó Copiapó, un valle de los transversales del norte de Chile. Dice así: "Se acababa de ordenar que todos los perros vagabundos fuesen muertos, y vi un gran número de cadáveres de ellos en el camino. Muchos perros habían sido atacados de hidrofobia y no pocas personas habían sido mordidas y sucumbieron a una horrible enfermedad. No es la primera vez que la hidrofobia se declara en este valle, y es muy sorprendente que una enfermedad tan extraña y tan terrible aparezca a intervalos en un mismo lugar aislado. Se ha observado también que ciertos pueblos de Inglaterra están más sujetos que otros a epidemias de este género, si puede emplearse tal expresión. El Dr. Unanué hace constar que la hidrofobia apareció por primera vez en la América meridional en 1803; ni Azara ni Ulloa oyeron hablar de ella en la época de su viaje, lo cual confirma aquella aserción. El Dr. Unanué agrega que la hidrofobia se declaró en la América Central y extendió lentamente sus estragos hacia el sur. Esa enfermedad llegó a Arequipa en 1807; dicese que, en esta ciudad, algunos hombres que no habían sido mordidos sintieron los efectos de la enfermedad; unos negros que se habían comido un buey muerto por hidrofobia también fueron atacados por ella. En Ica, cuarenta y dos personas perecieron desgraciadamente. La enfermedad se declaraba de 12 a 90 días después del mordisco y la muerte llegaba invariablemente dentro de los 5 días que seguían a los primeros ataques. Después de 1808 transcurrió un largo intervalo durante el cual no se señaló ningún caso de esa enfermedad". Darwin termina su comentario sobre la hidrofobia diciendo: "Quizás fuera posible procurarse gran número de informes útiles acerca de una enfermedad tan extraña estudiando en qué circunstancias se declara en países separados; es muy improbable, en efecto, que sea traída por un perro mordido antes del viaje, necesariamente muy largo, como lo es la distancia que existe entre los países atacados".

Para realizar nuestro análisis epidemiológico debimos recurrir a una investigación de la edad, especialmente en los perros, y de la magnitud de nuestra población canina, para no usar cifras absolutas sino frecuencias relativas. El estudio sobre la proporción de población

humana - población canina, comprende 14 comunas o municipios de lo que pretenciosamente llamamos el gran Santiago; la proporción es altamente variable, respondiendo a las diferentes características socio-económicas. En una comuna de gran acomodo socioeconómico como es Providencia, la proporción es de un perro por cada 23 habitantes, mientras que una comuna de alta ruralidad, como La Florida, tiene un perro por cada 4,6 habitantes. Calculando la población canina hemos obtenido la cifra de 280.505 perros para una población humana de 2.647.000 personas, lo que da una proporción general media de 10,18 habitantes para cada perro.

En esa población canina estudiamos la distribución por grupos de edad, observando que hay un 20% de perros menores de un año y que el grupo mayoritario se encuentra entre uno y cinco años. Ello nos lleva a afirmar que la población canina se renueva prácticamente, cada seis años. Esto significa la pérdida de la inmunidad de masa que pudiera alcanzarse en un momento dado. La edad media de los perros, con un desvío de 0,04, es de 3,88 contrastando con un estudio hecho por nosotros en 1953, que nos daba 2,9 años como edad media en esa época.

El estudio de la distribución por sexo demostró un 21% de hembras y un 79% de machos. Esto se explica por la costumbre de sacrificar las hembras luego del nacimiento.

El análisis de los 8.357 casos positivos a rabia para el período comprendido entre 1936 y 1965, según especie animal, demostró que el perro está representado en un 85%. Al distribuir las muestras por quinquenio, para ver si la proporción en que el perro está representado en la distribución por especies se mantiene, hemos llegado a la conclusión de que la variación en los porcentajes a través del tiempo es insignificante. El gato tiene una proporción muy baja (4,7%); para los vacunos es ligeramente más alta (6,3 %). Con esto nosotros hemos determinado que el reservorio de la rabia en Chile es el perro y por lo tanto centramos nuestro análisis epidemiológico en la rabia canina.

En el Cuadro I tenemos una división del país por zonas con características comunes, y vemos la distribución por especies. El perro mantiene su alta proporción, especialmente en el Norte Grande. Esto también responde a características de la población animal, como se puede apreciar en la columna de vacunos: en la zona Sur presenta el 19,7% del total de casos, debiéndose seguramente a que la población ganadera es la más importante en esta zona. Sin embargo, el perro mantiene su influencia y los casos bovinos encontrados a través de todo el período analizado derivan siempre de la especie canina.

CUADRO I

Distribución de las muestras positivas a rabia, según especie
por zonas geográficas. Chile 1936 - 1965

ZONA	NUMERO DE MUESTRAS POSITIVAS											
	Total		Perro		Gato		Vacuno		Humano		Otros	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Total	8.357	100.0	7.157	85.6	393	4.7	522	6.3	94	1.1	191	2.3
Norte Grande	58	100.0	53	91.4	5	8.6	—	—	—	—	—	—
Norte Chico	32	100.0	26	81.2	1	3.1	5	15.6	—	—	—	—
Valle Aconcagua	1.743	100.0	1.510	86.6	126	7.2	67	3.8	11	0.6	29	1.7
Santiago	4.517	100.0	3.977	88.0	204	4.5	174	3.9	60	1.3	102	2.3
Valle Central	1.439	100.0	1.166	81.0	43	3.0	164	11.4	16	1.1	50	3.5
Sur	559	100.0	418	74.8	14	2.5	110	19.7	7	1.3	10	1.8
Austral	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sin antecedente	9	100.0	7	92.2	—	—	2	9.8	—	—	—	—

Se puede apreciar (Cuadro I) que de los 7.157 casos de rabia en perros del país, 3.977 pertenecen a la provincia de Santiago, lo que representa el 55,57%. Por consiguiente, la provincia de Santiago es el foco más importante y el perro su reservorio.

Una vez estimada la población canina y el número de casos, hemos aplicado tasas por 10.000 perros para poder comparar lo que sucede en un área y en otra (Cuadro II).

CUADRO II

Tasas de incidencia de rabia de la población canina
según zonas geográficas. Chile 1936 - 1965

Zonas Geográficas	Población canina estimada	Número de casos	Tasas por 0/000
Norte Grande	36.408	53	14.6
Norte Chico	25.957	26	10.0
Valle Aconcagua	62.043	1.510	243.4
Santiago	173.758	3.977	228.9
Valle Central	149.366	1.166	78.1
Sur	121.858	418	34.3
Austral	18.035	—	—

El mapa de la distribución de estas tasas en las diversas zonas, muestra que las tasas sobre 200 por 10.000 están en la parte central del país, que cubre las provincias de Aconcagua, Valparaíso y Santiago. Estas tasas son arbitrarias, pero se toman para todas las provincias de la misma manera y corresponden a los 30 años; no es una tasa anual.

El extremo norte se ve muy poco afectado y la zona austral no ha registrado casos de rabia en los 30 años del estudio.

La distribución geográfica de la rabia en el país está, naturalmente, ligada a la mayor o menor densidad de la población canina, lo que se puede apreciar en el Cuadro III.

CUADRO III

Distribución de las muestras positivas a rabia y densidad de la población canina según zona geográfica. Chile 1936 - 1965

Zona	Densidad Población canina	Muestras Nº	Positivas %
Total	— —	8.357	100,0
Norte Grande	0,13 x Km ²	58	0,7
Norte Chico	0,65 x Km ²	32	0,4
Valle Aconcagua	4,11 x Km ²	1.743	20,9
Santiago	17,16 x Km ²	4.517	54,0
Valle Central	2,27 x Km ²	1.439	17,2
Sur	1,28 x Km ²	559	6,7
Austral	0,07 x Km ²	—	—
Sin antecedentes	— —	9	0,1

Si nosotros representamos estas tasas de incidencia a través de los 30 años para la provincia de Santiago, nos encontramos con el Gráf. I, e inmediatamente llaman la atención estos brotes epizooticos que se repiten cada cinco años a partir de 1945, con absoluta regularidad durante 20 años; más adelante analizaremos la desaparición del brote epizootico esperado para 1965, de acuerdo con estos antecedentes.

Para poder analizar las diferencias que existen entre las tasas observadas en las tendencias de la epizootia, se ha recurrido a un análisis mediante promedios móviles referidos a un valor 100. Si nosotros tomamos la información y la dividimos por períodos en relación a los 5 años que corresponden a cada ciclo epizootico tendremos un primer año que es el inmediatamente posterior a un brote, un segundo año post-epizootico, un tercer año interepizootico, un cuarto año pre-epizootico y el quinto que corresponde al brote epizootico. A éstos los llamamos períodos I, II, III, IV y V (Gráf. II).

Grafico I

TASAS DE INCIDENCIA DE RABIA DE LA POBLACION CANINA,
POR AÑOS, SANTIAGO 1936-1965

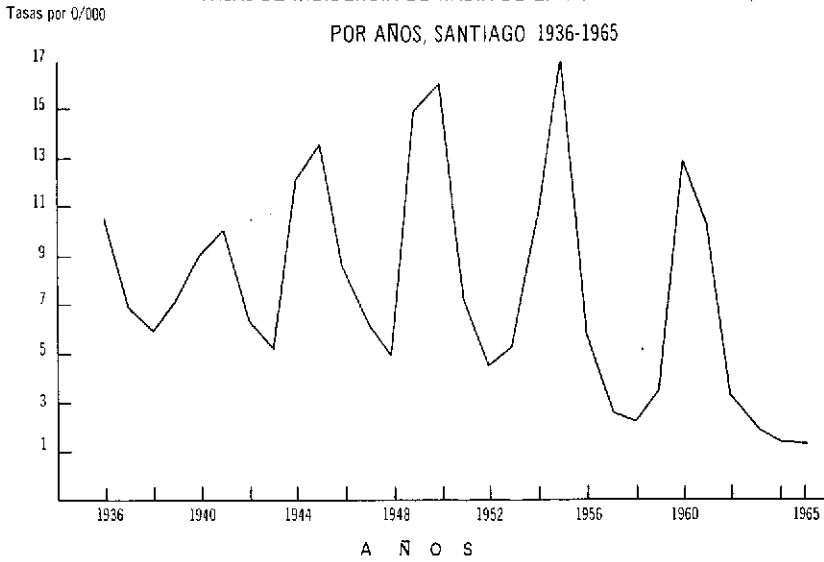


Gráfico II

DISTRIBUCION DE LOS INDICES DE VARIACION CICLICA, EN PERROS, POR PERIODOS,
SANTIAGO 1936-1965

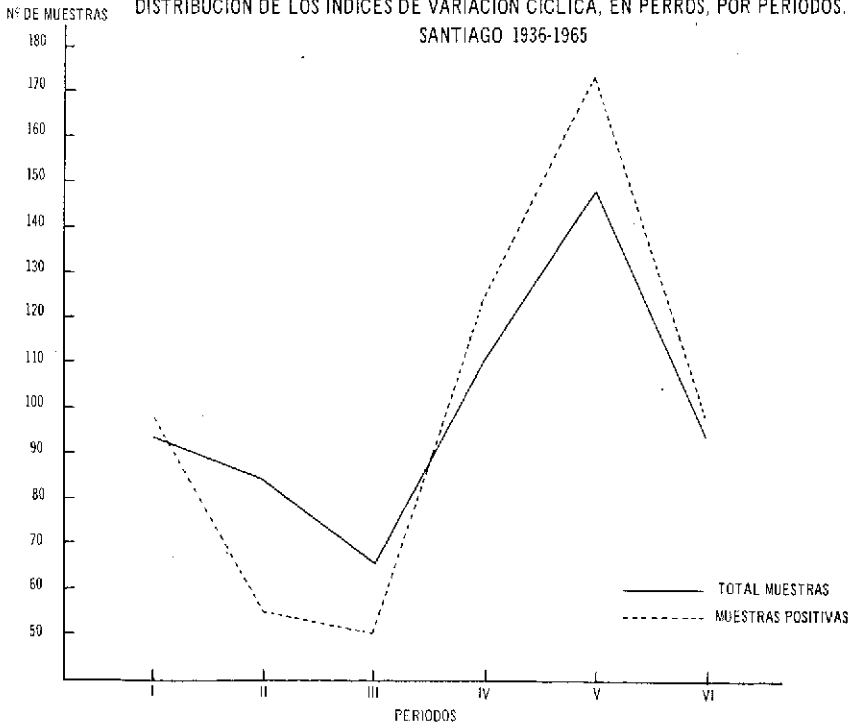


Gráfico III

DISTRIBUCION DE LOS INDICES DE VARIACION ESTACIONAL DE LA RABIA
POR PERIODOS. CHILE 1936-1965

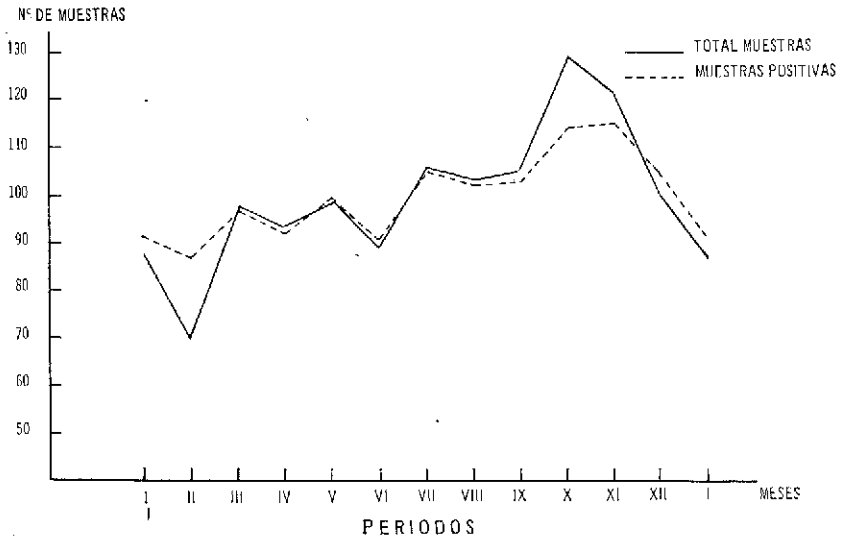
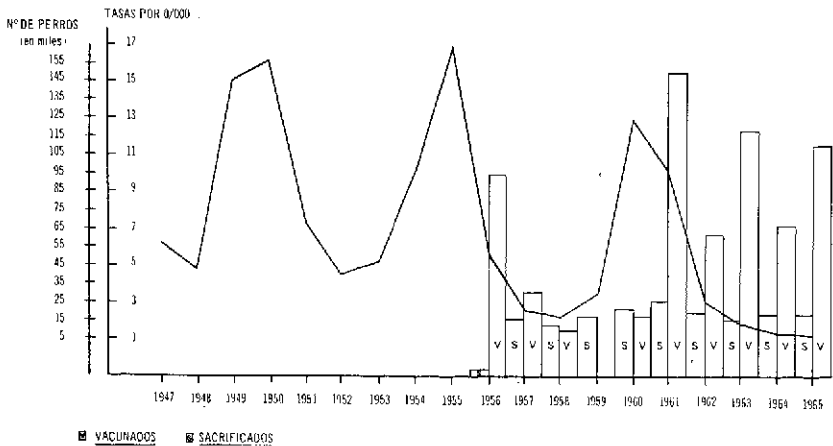


Gráfico IV

DISTRIBUCION DE PERROS VACUNADOS Y SACRIFICADOS
POR AÑOS. SANTIAGO 1956-1965



El mismo método hemos aplicado para determinar si en los 30 años nosotros observábamos una variación estacional, muchas veces negada por los diferentes autores. Siempre la rabia se ha relacionado con el calor y se suponía que podía haber un alza durante el verano (Gráf. III).

Se observa un alza de la incidencia durante los meses de octubre y noviembre. Encontramos lógico este hecho ya que el período de celo en la perra, en Chile, ocurre generalmente durante agosto-setiembre. Por lo tanto hay un mayor contacto directo entre los perros que luchan por la posesión de la hembra y se muerden entre sí. Este aumento no es realmente una variación estacional determinada por un aumento o disminución de la temperatura, sino simplemente por una mayor exposición al riesgo.

Al analizar las acciones que se han desarrollado en el control de la enfermedad en la provincia de Santiago, se ve que hay un esfuerzo realizado en los años 1955-1956; éste disminuye para 1957, mucho más para 1958, y desaparece prácticamente en 1959, para renovarse con poca intensidad en 1960. A partir de este momento se mantiene un programa sostenido con vacunaciones masivas cada 2 años.

CUADRO IV

Distribución de la población canina según la oportunidad de la inmunización antirrábica por grupos de edad: Ciudad de Santiago, 1966

Grupos de edad (en años)	F R E C U E N C I A						
	Total encuestado	V A C U N A D O S					
		Total		- 1		+ 1	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
TOTAL	5.012	2.895	57,75	2.035	40,60	860	17,15
Menores de un Año	1.031	147	14,25	147	14,25	—	—
1 - 4,9	2.572	1.620	62,87	1.200	46,65	420	16,32
5 - 8,9	932	783	84,01	473	50,75	310	33,26
9 - 12,9	280	247	88,21	147	52,50	100	35,71
13 - 16,9	71	66	92,95	45	63,38	21	29,57
Sin Inf.	126	32	25,99	23	18,85	9	7,14

- 1 = Inmunización de menos de un año de antigüedad.

+ 1 = Inmunización de más de un año de antigüedad.

El Gráf. IV representa las acciones de control relacionadas con la tasa de incidencia por 10.000 perros. Puede observarse cómo el esfuerzo iniciado en 1955-56 influye en la curva, disminuyéndola notablemente en relación con períodos anteriores, y cuando el esfuerzo se hace sostenido y regular no se produce el brote epizootico correspondiente a 1965; la tasa para 1966 es aún más baja, manteniéndose la rabia totalmente bajo control.

En la encuesta que se refirió al estudio de la población canina, averiguamos los antecedentes de oportunidad de la inmunización antirrábica, y encontramos que del total de perros había un 75% que tenían antecedentes de vacunación. Un 40% de ese total había sido vacunado en el período dentro de 1 año a contar de la fecha de la encuesta. Si esto lo relacionamos con lo observado en la curva anterior vemos que la inmunidad de masa requerida para controlar la enfermedad no sobrepasa el 60%, y aún podría ser inferior, pues hay un 17% que había sido vacunado más de un año antes.

Nosotros quisimos averiguar qué había pasado con la técnica de investigación de corpúsculos de Negri en esos 30 años, por especie, y encontramos los valores presentados en el Cuadro V. El 67,6% de positividad encontrado en alrededor de 4.500 muestras difiere de lo que señalaba el Dr. Atanasiu de un 94% en 825 muestras, así como de los datos dados por diferentes autores a través del tiempo. Tenemos que hacer presente, sin embargo, que durante los 30 años se utilizaron diferentes técnicas al mismo tiempo (Mann, Martinotti y Sellers).

CUADRO V

Distribución de muestras positivas a rabia según corpúsculos de Negri por especie. Santiago 1936 - 1965

Especie	NUMERO DE MUESTRAS POSITIVAS		
	Total	G. de Negri	
		Nº	%
Total	4.517	3.054	67.6
Perro	3.977	2.732	68.7
Gato	204	148	72.6
Vacuno	174	107	61.5
Humano	60	43	71.7
Otros	102	24	23.5

Al continuar este estudio, hemos eliminado los 15 primeros años y los 5 últimos —por estar la rabia bajo control— y en los 10 años restantes (1951-60) hemos analizado las diferencias que se producen en relación a los diferentes periodos del ciclo de la rabia, comprobando que la diferencia que existe en la frecuencia relativa del corpúsculo de Negri es altamente significativa según se trate de un período epizootico o interepizootico. Para analizar con más detalle este hecho recurrimos a la técnica de las tasas ajustadas —se toma el total de casos para el período y se calcula mes a mes el número esperado. En general, las tasas ajustadas fueron similares a las tasas observadas. Luego determinamos las variaciones estacionales para esta frecuencia relativa de corpúsculos de Negri, pensando que podríamos tener una posibilidad de predicción de un brote epizootico si las tasas de incremento diferían significativamente. La tasa de incremento observada, de 0,36 para el período interepizootico y 1,95 para el período preepizootico, no tiene valor prediccional, según los datos obtenidos en la prueba de significación, por medio de la representación gráfica.

Si nosotros nos atenemos a lo que opina el Dr. Fernandes, diríamos que el corpúsculo de Negri es una lesión, y como tal es una medida de la virulencia del virus y de su patogenicidad. Si hay diferencia significativa entre uno y otro período en la presentación del corpúsculo de Negri, es indudable que tendrá que haber una variación en conducta del virus rábico, no sólo del huésped como suponíamos previamente. Hay una dinámica de la enfermedad en que existen dos variables fundamentales, el agente causal de la enfermedad y el huésped o reservorio de ella. El ambiente, en rabia, parece jugar un rol muy pequeño.

DR. SA FLEITAS — Mi primer deseo es hacer mi ponderación por la importante contribución presentada por el Dr. Mora, que revela un prolijo estudio con procedimientos altamente precisos. Nuestro mayor deseo sería hacer un voto porque estos procedimientos se generalizaran en otros territorios de Latinoamérica.

DR. COCOZZA — Dr. Steele, sus comentarios sobre el control fueron muy pertinentes. Se hicieron afirmaciones realistas con respecto a una nueva filosofía concerniente a la rabia y su importancia. Nosotros debemos pensar en términos de programas continuados, y éstos deben ser realistas. Debe pensarse en un programa planificado y coordinado con la totalidad de las autoridades de salud. Nuestra primera línea de defensa debe ser una barrera contra la infección humana y, en este respecto, el perro es el principal animal involucrado.

En México estamos operando un programa en el cual se ponen en práctica algunas de las cosas que mencionó el Dr. Steele. Tenemos personal, vehículos, y la posibilidad de establecer programas educacionales. En el pasado destruíamos todos los perros y de esta forma afligíamos a muchos dueños. Ahora capturamos los perros y damos a sus dueños la oportunidad de recobrarlos. De esta forma hemos al-

canzado mayor éxito. Esperamos que este programa se extenderá hasta abarcar la totalidad del país.

Incidentalmente, en Granada la mangosta fue introducida para controlar la población de ratas y no de víboras.

DR. BAER — Quisiera preguntar al Dr. Mora a qué se deben, según su criterio, los ciclos de 5-6 años entre los periodos epidémicos en su estudio.

DR. MORA — Primeramente nosotros relacionábamos estos ciclos epizooticos solamente con el perro. Por eso en 1953 se hizo un trabajo investigando la relación edad/rabia en el perro, pues se nos había dicho que era más frecuente en los animales jóvenes. Y efectivamente casi el 70% de los casos ocurrían en perros menores de 4 años, pero estos casos correspondían exactamente a una distribución igual de la población canina por edad: el 70% de la población eran menores de 4 años. Luego pensamos nosotros que, tal como se ha visto en la literatura, pueden existir infecciones en cantidad insuficiente como para producir la enfermedad y que el perro infectado puede reaccionar generando anticuerpos. Hay algunos trabajos realizados en zorros, en los cuales se encuentran anticuerpos después de periodos epizooticos de rabia; como una inmunización natural. Hasta que llegamos al estudio que he presentado hoy en forma muy resumida, no pensamos que pudiera haber alguna variación en el agente causal. Esta variación hemos creído encontrarla al analizar las diferencias en la presentación de los corpúsculos de Negri, que siendo una lesión son un índice de la variación en la virulencia del virus.

Cuando hemos escuchado los diferentes trabajos, tan extensos y tan profundos, observamos que habitualmente se trabaja con uno o dos virus que se obtienen del campo. Pero ese virus, ¿es tan inmutable a través del tiempo que podamos comparar los resultados obtenidos en laboratorio con lo que sucede en la naturaleza? ¿Acaso este agente biológico no cambia, como cambian otras poblaciones? ¿Es el virus siempre igual? ¿Cambia con el tiempo? ¿Cambia según el huésped con quien se encuentra?

Se nos han señalado hoy día las diferencias en el periodo de incubación. Cuando se presenta un brote epizootico, hay más corpúsculos de Negri, se oye hablar inclusive de cepas negrígenas. Además debemos suponer que para que exista un brote epizootico, los periodos de incubación deben ser más cortos. Estas son hipótesis que están surgiendo de nuestro análisis y pensamos que pudiera haber alguna relación entre la frecuencia con que se encuentran los corpúsculos de Negri y los periodos de incubación.

La epidemiología es descriptiva, y es analítica, pero al mismo tiempo tiene que ser experimental, y a esta etapa hemos llegado nosotros. Necesitamos hacer una epidemiología experimental para poder determinar el valor de las hipótesis que estamos formulando. Nosotros no hacemos afirmaciones, formulamos hipótesis; pero éstas deben ser comprobadas experimentalmente.

DR. ROSALES — Los puntos que voy a tratar tienen relación con el trabajo presentado por el Dr. Mora y con el interesantísimo trabajo del Dr. Steele.

En primer lugar, yo considero que el estudio de la población canina y su razón al hombre es importante en la parte de planificación, para fijar metas de inmunización de la masa canina. Sin embargo, en nuestra experiencia en Venezuela de encuestas periódicas realizadas en un grupo de 25 poblaciones urbanas de diferente estructura proporcional —variando entre 72% y 54-58% de urbanismo— nos hemos encontrado con que la densidad de la población canina, aunque influye verdaderamente en la posibilidad de la presencia de rabia en el perro, es un factor relativo. Nosotros tenemos poblaciones con 22% de masa canina en relación a la humana, que no presentan problemas de rabia. Esas poblaciones tienen una estructura familiar dinámica muy diferente a la de las poblaciones más urbanas. La relación sexo que hemos encontrado en estas poblaciones es más o menos de un 52-53% de machos, mientras que en las poblaciones más urbanas hemos encontrado las mismas relaciones que presentó el Dr. Mora: 72-74% de machos. De tal manera que estoy muy de acuerdo con el Dr. Mora en que el estudio de la estructura de la población es importante, debido a la posibilidad de mordeduras entre los perros por la competencia familiar, al reducirse el número de hembras, posiblemente por el sacrificio. Pero en Venezuela no es el sacrificio, sino la importación de animales de los medios rurales a las poblaciones urbanas del país. Esto trae como consecuencia, además, que la renovación se realice no solamente por la reproducción sino también a través de estas migraciones, manteniendo siempre una alta incidencia de población susceptible no vacunada. De manera que yo recomendaría a este Seminario que dentro de las conclusiones, si fuera posible, se recomendará a los gobiernos y a los ministerios de salud que tienen a su cargo los problemas de zoonosis, que se den a los servicios veterinarios de lucha antirrábica la posibilidad y los recursos necesarios para que estos estudios se hagan con frecuencia.

Por otra parte quiero tratar, en el problema de control, el aspecto de la eliminación canina. En Venezuela se realiza a base de veneno. No tenemos perreras municipales, no tenemos captura de animales, y hacemos eliminación directa en las calles por sulfato de estricnina. Este método yo creo que es bueno pero dentro del programa de eliminación, según mi experiencia, hay metas sustancialmente críticas. Nosotros hemos realizado grandes eliminaciones en las ciudades; sin embargo, la rabia no se ha acabado. Yo creo que es necesario establecer metas sustancialmente críticas sobre todo en las condiciones en que se mantiene la organización estructural socio-económica de nuestro pueblo. De acuerdo a las observaciones sobre las mordeduras, que en 1966 alcanzaron a 38.000, encontramos que el 87-90% de las mismas son de perros con dueño pero de conducta callejera. El amor al perro es una cosa general: todo el mundo quiere

tener un perro. Entonces estas eliminaciones masivas, posiblemente, además de romper la estructura del carácter sexual también rompen una estructura tradicional. Perro eliminado es perro repuesto y entonces llegan abundantes animales jóvenes, con más vigor sexual, con más intranquilidad que los eliminados, viejos, domesticados y mansos, a formar parte de la población susceptible. Este es otro punto que sería digno de estudio, para ver hasta dónde la eliminación canina es beneficiosa y hasta dónde hay un nivel crítico de eliminación.

Tocando otro aspecto del problema, considero necesario que todo programa de vacunación se haga con vacunas de calidad verdaderamente reconocida. Voy a proponer también al Seminario que se estudie la posibilidad de recomendar, dentro de los laboratorios nacionales de los diversos países, un mínimo de dosis de vacuna a prepararse por cada lote, a fin de que puedan tener una frecuencia de prueba de calidad, potencia, antigenicidad, patogenicidad, etc., de manera que los administradores sanitarios tengan suficiente base para decir que la vacuna es de calidad óptima para los programas de vacunación.

En lo referente a la parte educativa, el país viene desarrollando un programa, desde hace 7 años, a nivel de las escuelas públicas. Este año el programa ha abarcado 18 regiones educativas con 1.400.000 alumnos, obteniéndose como resultado 220.000 vacunaciones en el lapso de 7 semanas. Nos llevó a esto la presencia de rabia con carácter epizootico, pero los resultados no han sido completamente satisfactorios y pensamos que quizás se deba a que las condiciones de producción de vacuna no se ajustaban a las normas requeridas y recomendadas por los expertos. Es verdaderamente importante que la comunidad participe en la lucha antirrábica. Nosotros lo estamos haciendo en esa forma; hemos logrado que 400.000 niños concurren con sus perros a las concentraciones escolares a hacerlos vacunar. Pero también existe el problema que mencionó antes otro de los participantes: los fondos son mínimos y no se reparten bien dentro de la organización presupuestaria; hay ciertos inconvenientes para el traslado de fondos. Es interesante también entonces recomendar que en aquellas regiones o zonas donde hayan brotes periódicos de rabia canina se obtengan del Estado los fondos mínimos suficientes y que se distribuyan en forma más o menos normal en las diversas áreas donde se presentan los casos.

COMENTARIOS SOBRE EL CONTROL DE LA RABIA

con especial referencia a México, Uruguay y Venezuela

DR. VILCHIS — Considero que, en relación a México, quizás fuera más ilustrativo que hablara en particular del programa contra la rabia en la frontera norte. El programa desarrollado en la frontera ha comenzado en la costa del Pacífico, comprendiendo las ciudades más

importantes de los Estados de Baja California y Sonora, extendiéndose a las poblaciones rurales y cubriendo los municipios fronterizos; el 16 de octubre se iniciará en dos Estados más y en marzo próximo se terminará con toda la frontera norte. Se piensa que, en corto plazo, este programa podrá extenderse a todo lo largo del territorio.

Puede considerarse que el programa ha tenido tres fases. En la primera se desarrolla el planeamiento, la programación y la promoción con las autoridades sanitarias locales, autoridades municipales e iniciativa privada. La segunda fase se refiere al reclutamiento, selección y adiestramiento del personal. La tercera fase comprende una primera etapa de vacunación masiva y otra de vacunación por cobertura de área, así como la captura de animales. En la organización administrativa sanitaria de México existe un nivel nacional central con Direcciones normativas encargadas de señalar los lineamientos generales, los cuales son sometidos a la consideración del Secretario, quien les da carácter de aplicación. En esas condiciones, dentro del planeamiento intervino la Dirección de Epidemiología y Campañas Sanitarias, la Oficina Sanitaria Panamericana, y la Dirección General de Servicios Coordinados en Estados y Territorios. En forma conjunta se señaló un plan de operaciones para iniciarse en las poblaciones de Ensenada, Mexicali, Tijuana, San Luis-Río Colorado y Nogales. Aprobado el plan de operaciones, se pasó al ajuste de programas a nivel local y a la etapa de promoción.

La promoción tuvo lugar a nivel de cada una de las ciudades, con las autoridades sanitarias locales, con las autoridades municipales, con la iniciativa privada. Concretamente, a las autoridades municipales y a la iniciativa privada se les pidió que dieran el terreno y contribuyeran por lo menos con un 40% del costo de las obras del Centro Antirrábico; el equipo, el pago del personal, los asesores nacionales e internacionales permanentes, y todos los demás gastos, serían cubiertos por la Federación de México y por la ayuda del programa. Se logró la aceptación de esta promoción.

Se determinó la fecha de la etapa de reclutamiento del personal, de la selección y adiestramiento del mismo, la educación sanitaria y las fases de vacunación. La educación sanitaria se inició simultáneamente en la comunidad, tomando en cuenta 2 aspectos fundamentales. Básicamente consistió en una información general sobre la rabia y sus problemas, como motivación para obtener del público que llevara sus perros a vacunar y que facilitara la captura.

Conseguido el personal adiestrado —vacunadores, capturadores, censistas— se realizó un censo de la población, llevándose un registro de perros, casa por casa.

Se inició luego la etapa de vacunación masiva, que tuvo una duración de 2-3 semanas. La vacunación se realizó en clínicas o en puestos fijos, y se anunciaba previamente por todos los medios de divulgación existentes: cine, propaganda escrita, carteles, altoparlantes. Cubierta esta fase de vacunación masiva se inició la de cobertura

por área. Las brigadas trabajaban en las calles, habiéndose calculado el personal necesario de acuerdo al número de manzanas a ser cubiertas.

Antes de iniciarse el programa, las 5 poblaciones involucradas fueron provistas con vehículos perreras adaptados y con el equipo necesario para hacer autopsia. El programa, en esta ocasión, fue simultáneo y debemos reconocer que la respuesta de la comunidad fue muy variable. Podríamos mencionar a Ensenada como ejemplo de una comunidad bien trabajada por las autoridades sanitarias locales, pudiendo cubrirse no sólo la ciudad de Ensenada, sino todo el municipio y una isla vecina. En cambio a San Luis-Río Colorado podríamos ponerla como ejemplo de una colaboración limitada. Dio la coincidencia de que hubo cambio de presidente municipal, de manera que el que terminaba su ejercicio no tuvo mucho interés en cumplir con el convenio, y el presidente electo estaba muy ocupado haciendo su campaña.

La captura era realizada por los autos-perrera, con un par de capturadores por cada vehículo. Se dio aviso previamente a la comunidad, y luego todo perro encontrado en la calle era recogido y llevado al Centro Antirrábico. Allí se mantenía durante 48 horas, y si en ese lapso su dueño no acudía a reclamarlo era sacrificado. Para el sacrificio se empleó gas de la combustión del motor de un vehículo; los perros mueren rápidamente y el espectáculo no es tan desagradable. En estas ciudades, en años anteriores, se realizaron programas permanentes de eliminación de perros por medio del veneno, con el consiguiente espectáculo desagradable en ciudades eminentemente turísticas.

Algunas ciudades han cubierto íntegramente su programa; otras se han retrasado un poco en la terminación de los centros antirrábicos y apenas están iniciando la etapa de captura.

El control de la fauna silvestre corresponde a la Secretaría de Agricultura y Ganadería. En la frontera norte ha existido problema de rabia silvestre en forma de casos esporádicos, de pequeños brotes ligados con el coyote. El problema no se considera permanente pero, sin embargo, se han realizado programas consistentes en el empleo de trampas, es decir cebos envenenados, con resultados bastante satisfactorios.

La población de estas 5 ciudades es de 902.000 habitantes, con alrededor de 90.000 perros. Se han vacunado 66.000 perros, lo cual representa, en algunas ciudades, más de un 100% de la estimación inicial, pues nuestra cifra estimada de alrededor de 80% de perros con dueño ha sido superada, en algunos lugares, en un 10 ó 15%. En cuanto a la eliminación, las cifras son bajas, excepto en la ciudad de Ensenada.

En octubre se iniciará la vacunación masiva en las poblaciones de Ciudad Juárez (500.000 habitantes) y Agua Prieta, Sonora (alre-

dedor de 20.000 habitantes). Para marzo, porque el invierno es muy crudo allá, serán cubiertas las restantes ciudades.

El programa contempla, al terminar esta primera etapa intensiva, el continuar con un personal mínimo de sostenimiento de los centros antirrábicos y responsabilizar a las autoridades municipales de la captura del perro callejero. En cuanto al diagnóstico, se cuenta actualmente con 2 laboratorios para inmunofluorescencia con los cuales se pueden cubrir las 3 zonas de la frontera para la realización de diagnósticos rápidos. La atención de las personas está a cargo de los Centros de Salud de la Secretaría.

DR. PÉREZ MOREIRA. — En el punto de control de la rabia canina, con respecto a la planificación, debemos insistir en que toda elaboración de un programa de lucha antirrábica debe ser iniciado fundamentalmente con un diagnóstico exacto de la situación; es decir, que debemos contar con una información básica lo más detallada y pormenorizada posible. En lo que respecta al Uruguay, en el año 1944 se erradicó la rabia en las zonas sur y centro del país; en la zona norte se mantuvo en los departamentos de Rivera y Cerro Largo (extremo oeste), ambos limítrofes con el Estado de Río Grande do Sul de Brasil. Sospechamos que en esta zona se mantuvo en forma enzootica por carecer de límites naturales que la separaran del vecino Estado brasileño. Otros departamentos de esa área nortea — Paisandú, Salto y Artigas — presentaron algunos casos esporádicos que, en ciertos años, evolucionaron hacia discretas epidemias regionales que fueron combatidas en el foco. Internacionalmente se declaró, en 1960, al Uruguay como libre de rabia humana y animal. Este hecho nos fue llevando paulatinamente a una aceptación de que la erradicación lograda era definitiva y ello motivó que las medidas de control sanitario fueran disminuyendo constante y permanentemente.

En el mes de setiembre de 1964 reapareció la rabia, siendo su primera manifestación la muerte de un ser humano que no recibió tratamiento. En total ocurrieron 13 casos en 1964, 11 en el departamento de Montevideo y 2 en el departamento de Rivera; el último diagnóstico de ese año fue en el mes de noviembre. Luego de un lapso reapareció a mediados de 1965, adquiriendo rápidamente tal magnitud que solamente puede ser expresada por medio de cifras: en el mes de julio, un caso; en agosto, 3 casos; en setiembre, 9 casos; en octubre, 61 casos; en noviembre, 76; en diciembre, 132.

En nuestro país no se ha realizado un censo de perros. En un primer momento se estimó que existía un perro por cada 6-8 habitantes; posteriormente se comprobó por muestreo al azar, y por la cifra de vacunados, que la relación es de un perro por cada 4 habitantes, lo que significa que en el país existen unos 685.000 perros, de los cuales 325.000 corresponden a Montevideo. En el curso de 1965 se habían vacunado unos 43.000 perros, es decir que las características de inmunización de los caninos era un factor más a considerar den-

tro de la magnitud del problema. Los perros callejeros correspondían a un 20-30% del total, es decir, entre 140 y 200 mil animales.

Con respecto a los factores culturales, es característica de nuestro país —y creemos que de toda Latinoamérica— la sensibilidad especial del hombre hacia los animales, fundamentalmente el perro. Por lo tanto, tenemos el firme convencimiento de que todo programa de lucha antirrábica que se elabore debe contar con el apoyo de la comunidad. Por ese motivo los programas deben ser de lucha antirrábica, no de lucha anticánina. Dentro de los factores culturales, un aspecto fundamental es la educación sanitaria. La finalidad de la educación sanitaria es motivar a la comunidad para que cada individuo reconozca la responsabilidad que le cabe y dé su amplia colaboración. Ésta fue la finalidad y el propósito que definió el plan de educación sanitaria del programa de lucha antirrábica del Uruguay. La comunidad debía tomar parte activa; no era un programa para la comunidad, sino que debía ser desarrollado con la comunidad. La participación de personal especializado, educadores sanitarios, tiene una doble finalidad. Por una parte, proveer conocimientos a grupos determinados de individuos que, en lo posible, deben llenar iguales condiciones socioculturales y económicas. No creemos que, por este medio, logremos un porcentaje aceptable de individuos motivados, pero sí sabemos que los que fueron interesados por medio de esas charlas serán quienes aconsejen luego en su propio ambiente. En segundo lugar, reconocer en los grupos a los que se dirige aquellos que pueden llegar a cumplir la función de líderes; a ellos se les invita a trabajar directamente, pues son los que tienen mayor posibilidad de acercamiento a los demás componentes de la comunidad para modificar hábitos erróneos de conducta. Un grupo muy importante de la comunidad es el de los escolares; sobre ellos debemos volcar con mayor intensidad los conocimientos que los lleven a formar hábitos sanitarios. Recordemos que por la propia psicología del niño éste siente la necesidad de tener responsabilidades, tal como observa que las tiene su padre. Es difícil que una persona desconocida, como es el educador sanitario, pueda modificar actitudes y conducta de los adultos, pero sí estamos convencidos de que el educador sanitario del hogar es el niño.

El Uruguay tiene ciertas características geográficas que lo hacen fácilmente controlable en casi toda su frontera, salvo una zona norte ya mencionada en la cual no existen límites naturales que nos separen del Estado de Río Grande do Sul. Respecto a la estructura político-administrativa, nuestro país está dividido en 19 departamentos. En cuanto a la definición de responsabilidades, creemos que los programas no deben ser realizados en forma aislada e independiente por distintos organismos estatales. No podemos concebir que se adjudique la responsabilidad de la captura de los perros a la Municipalidad, que la campaña de vacunación la realice el Ministerio de Salud Pública o el Ministerio de Ganadería y que el factor educativo sea propio de los consejos de enseñanza. Creo que lo más importante es establecer

una comisión en la cual estén representados los distintos organismos del país que tienen que ver con el problema de la lucha contra la rabia. Así fue como se hizo en el Uruguay, constituyéndose una comisión interministerial con representación, principalmente del Ministerio de Salud Pública, ministerio de Defensa Nacional, ministerio de Ganadería y Agricultura. Pero las comisiones departamentales estaban constituidas por representantes de Salud Pública, Ganadería y Agricultura, policía, ejército, intendencia, y en ellas colaboraban todas las organizaciones civiles que quisieran hacerlo.

Respecto a las vacunas, en Uruguay hemos empleado en un 96 %, vacuna tipo Fuenzalida. Los métodos utilizados fueron el establecimiento de puestos móviles que recorrían las distintas áreas preestablecidas. Por ejemplo, en el caso del departamento de Montevideo, se dividió éste en 3 zonas: urbana, suburbana y rural. Cada zona se dividió en áreas, y cada área en distritos. La dimensión del distrito que debían recorrer 2 equipos era una de las características a tener en cuenta, así como el número de habitantes. Los puestos fijos se abrieron inmediatamente en Montevideo, contando con la colaboración policial. En todas las comisarías de Montevideo se establecieron puestos fijos, siendo los vacunadores y sujetadores pertenecientes al personal policial, adiestrados para tal tarea. Las escuelas han sido otro de los puntales básicos de la vacunación en Montevideo. Previas las charlas educativas habituales a los escolares, se establecía un día determinado para que los niños concurrieran a la escuela acompañados de sus perros, los cuales eran vacunados en ese momento.

Nosotros hemos definido como "perro callejero", al perro que está en la calle. Se dividen en 2 grupos: los perros vagabundos y los perros sueltos. El "perro vagabundo" es aquel que no tiene dueño responsable, y "perro suelto" es el de conducta callejera, en general creada por su dueño que lo suelta para que busque su propia alimentación. Un perro que está suelto dentro de su domicilio, separado de la vía pública por un tejido o alambrado, es tanto o más peligroso que un perro suelto, porque fácilmente es infectado por los perros callejeros; además, las mordeduras que pudiera infligir más tarde a los miembros de la familia o a personas que visitan el hogar pueden llevar al falso criterio de que, como es un perro mantenido en su domicilio, no puede tener rabia, y puede dar motivo a que las personas mordidas no consulten al médico. Con respecto al método indicado para la reducción del número de perros callejeros —captura, envenenamiento, educación— varían según las condiciones epizootiológicas y culturales. En el Uruguay, la emergencia planteada por la extrema gravedad de la epidemia explosiva, hizo que todos los métodos fueran utilizables. La captura se realiza por perreras o vehículos apropiados para tal fin; el animal se captura, se lleva al servicio veterinario del Instituto Antirrábico, y allí permanece 48 horas a la espera de ser reclamado por sus propietarios. En caso de reclamación, es entregado previa vacunación y pago de una multa, que se cobra con la

finalidad de mantener los recursos económicos que hagan posible la continuación del programa de lucha antirrábica. El envenenamiento se utilizó durante los primeros meses de 1966, realizándose principalmente de noche, pues, de acuerdo con lo expresado por el Dr. Vilchis, es un espectáculo completamente desagradable y repudiado por la comunidad.

Con respecto a la cantidad de recursos necesarios, posiblemente el caso de Uruguay no sea un ejemplo para tener en cuenta en este Seminario, porque nosotros elaboramos un programa teniendo en vista los objetivos, los métodos, la organización en general y los recursos, si no existían, había que conseguirlos. Esos recursos se consiguieron de la comunidad. Contamos, por ejemplo, con personal de enfermería que trabajó totalmente gratis vacunando perros, llegando a constituir, en determinadas ocasiones, de 80 a 120 equipos diarios, y en el mes de marzo, en 30 horas de trabajo, se llegó a vacunar un perro por segundo.

En cuanto a la rabia silvestre, no tenemos casos diagnosticados. Rabia bovina transmitida por vampiros no existe en el Uruguay; los pocos casos que se han encontrado han sido debidos a mordeduras de perros.

El control de la rabia planteó un grave problema en la frontera norte, donde existen dos ciudades, una uruguaya —Rivera— y una brasileña —Santa Ana do Livramento—, separadas por una calle en la cual desembocan otras 39. Se comprende, por consiguiente, la facilidad del pasaje de perros de una ciudad a otra. Se establecieron contactos con autoridades sanitarias y militares del Estado de Río Grande y llegamos a un total acuerdo de que en salud pública las fronteras no existen, debiendo trabajar en base a programas coordinados. Sin llegar a una decisión oficial en este sentido, se trabajó en ambas ciudades con personal mixto. En Rivera se trabajó con vacunadoras enfermeras uruguayas y estudiantes liciales y escolares de Santa Ana, y la vacunación en Santa Ana do Livramento se realizó con enfermeras uruguayas y personal sujetador de las tropas del ejército brasileño. Posteriormente, y con el apoyo del Centro Panamericano de Zoonosis, se ha elaborado el proyecto de un convenio sanitario con las autoridades del Estado de Río Grande do Sul para encarar no solamente el problema de la rabia, sino un programa sanitario total.

DR. ROSALES. — Hablando en términos de salud pública como mercancía que se vende, la magnitud del problema de la rabia es muy débil. Si nosotros calculamos las muertes evitadas por rabia, cuando tenemos 20 ó 10 muertes, en relación a las muertes evitadas por tétanos, que tenemos 700-800 por año, nos encontramos con que los dirigentes sanitarios van a encontrar de mayor magnitud el problema del tétanos que el de la rabia. Porque no se miden las consecuencias indirectas de este problema, los daños económicos y físicos aparte de las muertes. Otro problema relacionado con la planificación sería la prioridad. Nosotros también tenemos poca prioridad en el problema

de la rabia porque, como dijo el Dr. Steele en una oportunidad, muy poca gente conoce lo que es una persona rabiosa en el proceso agudo de la enfermedad, con plena conciencia de que tiene rabia y de que va a morir. Se da prioridad a otras enfermedades porque se conoce y se ve la importancia del daño que causan, como por ejemplo la polio-mielitis. Sin embargo, yo creo que en mi país es más importante la rabia que la polio, pues debido a nuestras condiciones sanitarias es un problema solamente de los niños pequeños y además se cuenta con una buena vacuna, que protege y no daña. Por lo tanto, también son muy reducidas las muertes que causa; a partir del cuarto o quinto año ya hay inmunidad natural, cosa que no ocurre con la rabia. Nosotros tenemos recursos cuando se presenta un caso humano de rabia, pero si el caso no se presenta el problema no se ve.

El estudio de los factores geográficos es muy interesante. Nosotros tenemos experiencia de que la simple existencia de un río entre dos regiones de un mismo país es una barrera para detener el paso de la rabia. Sin embargo, descuidamos la interacción entre países y siempre estamos respondiendo a la frontera política, siendo que el virus y las bacterias no respetan esa frontera. De manera que el estudio y la acción mancomunados de regiones geográficas con iguales características, como sucede entre Estados Unidos y México, o entre Uruguay y Brasil, o entre Colombia y Venezuela, debería ser tema de este Seminario, para que salgan recomendaciones que eliminen ese factor político y se actúe en forma conjunta en el combate de esta enfermedad.

Dentro de la estructura político-administrativa hay diferentes actitudes. En Venezuela, una estructura política estable es la del Ministerio de Salud Pública. Pero no sucede lo mismo con las municipalidades; se renuevan continuamente las personas y las municipalidades cambian de criterio como de personas. De tal manera que es difícil que las municipalidades intervengan en el problema de la rabia en forma permanente, porque depende del pensamiento administrativo-político de los actuantes en el momento en que salen elegidos. De tal manera que el Ministerio de Salud Pública, en Venezuela, tiene y seguirá teniendo por largo tiempo la responsabilidad de la lucha antirrábica canina urbana.

En cuanto a la educación, yo considero que todos estamos de acuerdo en que es uno de los puntos primordiales en todo programa de control. Los principios de un programa de lucha contra la rabia son eliminación y vacunación; pero, desde los tiempos de Pasteur hasta ahora, son principios que deben estar acompañados por el factor cultural. La actitud de tenencia de un perro cambia entre un suizo, o un inglés, o un latinoamericano. En mi país es necesario que los tres factores se apliquen conjuntamente a fin de poder lograr un buen control antirrábico.

Con respecto al tema de vacunación, y como lo dije anteriormente, venía con sospechas sobre la aplicación de uno u otro tipo de

vacuna. Pero me voy satisfecho, pues los expertos me han dado la seguridad de que cualquiera de las vacunas que se aplique, y en especial la vacuna LEP, es suficientemente efectiva si se cumplen las normas requeridas para la producción de un buen producto.

En cuanto a la definición de perro callejero, quiero aclarar un punto que antes traté muy ligeramente. Yo no estoy en contra de la eliminación, y creo que es una medida efectiva. Considero que las medidas de eliminación deben ser estudiadas, así como la estructura dinámica de la población canina, para poder fijar metas de eliminación que no sean contraproducentes por la importación de animales jóvenes de otros lugares del país.

También estoy de acuerdo con lo que se ha dicho respecto a los recursos. Creo que muchas veces no conseguimos recursos porque no demostramos que estamos usando bien los que tenemos. Sin embargo, es bueno entender que verdaderamente estamos reducidos de recursos, posiblemente porque hay problemas de salud más importantes, y es necesario que las recomendaciones de este Seminario contemplen estos problemas, pues los encargados de la lucha antirrábica en los diversos países deben contar con los recursos mínimos necesarios.

Dr. COCOZZA. — No hay la menor duda de que la existencia de rabia provoca una preocupación bastante pesada a las autoridades sanitarias. Cuando los brotes ocurren en áreas fronterizas el grado de preocupación asume proporciones todavía más elevadas, por razones obvias. La frontera México-Estados Unidos ha tenido un problema crónico de rabia, puesto de relieve por los brotes espectaculares en El Paso, Texas, en 1957, y en la bahía de Mexicali en 1960, con más de 200 casos el último y 120 en El Paso. Vale la pena considerar que es una frontera de 1.500 millas, con una serie de 14 ciudades gemelas. Un problema como el de la rabia, que afecte a una ciudad, afecta también, por razones limítrofes, a la ciudad gemela y requiere programas simultáneos y efectivos para su desarrollo. Es obvio que los programas de corto plazo, montados en el pasado únicamente para la solución de una emergencia, no han sido suficientes para lograr un control adecuado. En 1965, el Secretario de Salubridad de México, reunido con el Cirujano General de los Servicios Nacionales de Salud Pública de los Estados Unidos y el director de la OSP, acordaron llevar a cabo programas de control de la rabia a lo largo de la frontera, con la meta de establecerlos, en primer lugar, en las ciudades fronterizas y después extenderlos a los estados limítrofes. No voy a entrar en los detalles de estos programas, pues ya han escuchado al Dr. Vilchis, que nos dio un panorama general de lo que se está haciendo. Pero quiero indicar que es únicamente a través de programas conjuntos de ambos lados que podemos esperar se domine el problema de rabia fronteriza. La experiencia adquirida en esta actividad quizás nos ayudará mucho en relación con otros programas que en el futuro puedan llevarse a cabo en otras áreas con problemas de rabia afectando a una y otra ciudad a lo largo de una frontera común.

DR. STEELE. — Los informes presentados indican que los principios del control son bien conocidos. Lo que parece estar ausente son objetivos definidos, esto es, cuántos perros deben ser vacunados, cuánta gente debe ser protegida, etc.

Si Uds. tienen una comunidad —digamos— de 100.000 personas, tendrán probablemente unos 10.000 perros (1:10). Este tipo de estimación les da inmediatamente un objetivo, porque se deben vacunar alrededor de 8.000 perros en un buen programa de control, y cuanto más pronto se realice, mejor. De paso, el estimar un perro por cada 10 personas no es seguro. En un programa realizado en Texas, vacunamos el 80 % de los perros basados en nuestra estimación de la población canina, pero la epizootia continuó. Luego encontramos que, en este caso, la proporción de perros no era de 1:10, sino de 1:5. Yo creo que es importante conocer, como base, la población canina, porque esto les dará una idea de cuántos perros se deben vacunar y cuánta vacuna se necesitará.

El segundo punto relacionado con el control es cuántos animales se deben eliminar de la población. Aquí es necesario nuevamente un cálculo de la población canina. Por ejemplo, en Atlanta, Georgia, tenemos una población humana de un millón, y cada año se eliminan 30.000 perros. Alrededor de los 2/3 de este número son matados por automóviles y el resto es capturado.

Un nuevo concepto que me gustaría comentar es el de las píldoras anticonceptivas para uso canino. Estas píldoras han sido usadas para controlar y disminuir el número de perros. Sin embargo, algunos animales desarrollan metritis u otros problemas debido a estas drogas, y algunos se vuelven estériles.

DR. SIKES. — En el control de la rabia selvática, el principio de reducción de los mamíferos terrestres es, en la práctica, demasiado caro para ser aplicado con éxito. Quizás en las situaciones de las islas podría resultar, si el influjo de animales puede prevenirse y la población de animales silvestres puede ser reducida. Se está trabajando en la reducción del número de mangostas en Granada, pero según me han informado, el progreso no es el que se esperaba. En este momento nosotros estamos evaluando la eficacia de los métodos de control de las poblaciones en ciertas zonas restringidas. Con los vampiros, el control de las poblaciones parece no ser eficaz y la única respuesta al derriague parece ser la vacunación del ganado.

Mucho se ha hablado sobre la eficacia de las vacunas. Con respecto a los perros, nosotros estamos convencidos que la disminución de 8.000 casos positivos de rabia en 1944 a 412 el año pasado se debe a la vacunación. La principal vacuna usada es la LEP. La vacuna debe ser administrada a perros de más de 3 meses de edad y sabemos que la vacunación de perros adultos produce una inmunidad que dura por lo menos 3 años. Si se vacunan los perros a los 3-4 meses, debe aplicárseles otra dosis al año de edad. Además, no hay nada

en contra de las vacunas muertas, y protegen por lo menos durante un año.

Algunas de las vacunas nuevas pueden dar buenos resultados en perros. La evidencia experimental obtenida con la vacuna ERA resulta promisorias. En bovinos —el principal problema en América del Sur— lo más importante es obtener una vacuna potente, producida en forma adecuada, convenientemente conservada y aplicada. De acuerdo a los resultados experimentales obtenidos por nosotros, las vacunas HEP, ERA y las vacunas muertas de tejido, todas dan buenos resultados.

DR. GREENHALL. — La gente se muestra pesimista con respecto al control de las poblaciones de vampiros, pero la experiencia de Trinidad indica que puede ser eficaz y una de las bases del control de la rabia. El eslabón débil es nuestro conocimiento de la ecología de los murciélagos. En muchas zonas, los vampiros viven en estrecha asociación con otras especies de murciélagos que han sido involucradas en el problema de la rabia. La idea de que la destrucción de los vampiros puede alterar el equilibrio de la naturaleza no es válida. Las grandes poblaciones de vampiros son debidas al hecho de que encuentran gran cantidad de alimento en los animales domésticos.

Pueden emplearse dos métodos para la reducción: uno sería la destrucción de los vampiros en sus albergues y el otro, sobre o cerca de sus víctimas. La aplicación de técnicas de control y estudios ecológicos intensivos podría permitirnos descubrir mejores métodos de control.

DR. FORREST. — Nosotros hemos destruido con cianogás, en una campaña realizada en 1965-1966, alrededor de 20.000 murciélagos. Esta destrucción pudo ser llevada a cabo visitando periódicamente las cuevas y estimamos que en 2-3 meses se pueden juntar nuevamente 50-100 vampiros donde antes existió una colonia de 200-400 individuos. Pensamos también ensayar la posibilidad de contaminar los vampiros con algún virus, como se ha realizado en otros países. Veremos también qué se puede hacer —y esto es más bien una hipótesis— irradiando vampiros para interferir su ciclo reproductivo.

DR. PARKER. — Hemos recibido una buena cantidad de información sobre investigación y control de la rabia. Cuanta mayor información epidemiológica obtengamos mejor sabremos cómo controlar la enfermedad. Tenemos buenos métodos de vacunación y control para los perros y gatos. Durante años nos pareció que, para controlar la rabia, era necesario vacunar al 65-70% de la población canina; el Dr. Mora ha demostrado que el control de la rabia parece ser efectivo con menos del 60% de los perros inmunizados en su país.

DR. DUMITH. — En la exposición que hizo el Dr. Rosales, no le alcanzó el tiempo para referirse al control de la rabia bovina en Venezuela, por lo cual voy a tomarme unos dos minutos para tratar este

aspecto. Los programas de control de la rabia bovina, en Venezuela, están en manos del Ministerio de Agricultura y Cria, el cual los realiza a través de 64 medicaturas veterinarias. Las medicaturas están distribuidas así: 36 en la región costa-montaña con un médico veterinario cada una y alrededor de 180 ayudantes; 22, con 110 ayudantes más o menos, en la región de los llanos; en la región de Bolívar, 6 medicaturas con 30 ayudantes; y en la región de las islas, una medicatura con 3 ayudantes. Estos tienen a su cargo los diagnósticos clínicos, el envío de muestras y la vacunación bovina. Existe un laboratorio central de diagnóstico en Maracay, que funciona en el Centro de Investigaciones Veterinarias. Las vacunas de uso bovino en Venezuela son elaboradas en el Centro de Investigaciones Veterinarias y, contrariamente a lo que se ha expuesto aquí en líneas generales, la vacuna HEP ha demostrado en Venezuela ser deficiente en cuanto a la producción de inmunidad, a pesar de que los títulos de producción han sido superiores a 10^4 , el envío se hace en cajas refrigeradas, se entrega directamente a las medicaturas, la vacuna se aplica con previa supervisión por parte de veterinarios y su potencia en cobayos es superior al 80%. Solamente con la vacuna Semple se han podido controlar los brotes de rabia más fuertes que ha tenido Venezuela. En ocasiones, la vacuna HEP se ha aplicado hasta 3 veces con una frecuencia de 30 días, y ni aún así hemos podido controlar los brotes de rabia.

DR. PORZECANSKI — Quiero hacer 2 consideraciones, una sobre la importancia de vincular el problema del control de la rabia con el control de la hidatidosis, y la otra sobre algunos resultados en nuestra experiencia con la vacuna del Dr. Fuenzalida.

Las campañas antirrábicas basadas en vacunaciones masivas, si bien permiten controlar rápidamente un brote, como lo hemos demostrado en el Uruguay, dejan, por su efecto temporario, el compromiso de la repetición anual de las vacunaciones por una parte, porque la vigencia de la vacuna inactivada es de un solo año y por otra, debido al crecimiento importante de una población canina como la nuestra, que supera seguramente el medio millón de individuos. Frente a los gastos y demás recursos que esto demanda hay que recordar que la rabia en nuestro país, igual que en Venezuela, va a la zaga de los demás problemas de patología infecciosa debido a su baja morbilidad y al escaso significado económico. Pero también hay que tener en cuenta que el perro juega un rol preponderante en la transmisión de la hidatidosis. Y mientras tuvimos un muerto por rabia en 3 años, calculamos anualmente 30 muertos por hidatidosis, muchos casos nuevos y enormes pérdidas económicas. De manera que la lucha contra la hidatidosis sí justificaría toda clase de gastos y sacrificios. Además hemos comprobado que actualmente el de la hidatidosis es un problema que desborda el ambiente rural. Una orientación que podría contribuir eficazmente a la solución de ambos problemas sería, además de la educación, una política permanente dirigida hacia la limitación del número de perros y su control por medio de la obli-

gatoriedad de presentar un certificado sanitario de cada animal. Nuestro gobierno ha aprobado recientemente una ley que hace universal la patente canina con precio elevado, aproximadamente un dólar; con un sentido limitativo, se establecen tasas progresivamente más altas de acuerdo al número de perros y a su sexo; se crean prohibiciones y trabas para la tenencia de perros en las ciudades. Los ingresos por patentes se destinan para asegurar la autofinanciación de programas antirrábicos y antihidatídicos, de educación, captura, vacunación y tratamientos antihelmínticos.

DR. SIKES — Quisiera comentar la información del Dr. Dumith de que, según parece, la vacuna HEP no da resultado en Venezuela. Sin embargo, esta experiencia no coincide con los resultados de otras experiencias con HEP. Yo no sé por qué la vacuna no protege en este caso especial. Quizás cada país tendría que determinar, por medio de pruebas y errores, cuál vacuna es la mejor en sus condiciones especiales. En realidad, la evidencia experimental obtenida con HEP parece buena.

DR. VILCHIS — En México también tuvimos una experiencia semejante. La vacuna de alto pasaje fallaba mucho; uno de los factores que podía invocarse era tal vez que la vacuna no tenía un período de viabilidad prolongado; una vez que salía de la conservación adecuada del laboratorio podía fallar. Pero el problema estaba, básicamente, en el manejo. Una vez que se entregaba a la persona que tenía que aplicarla, la vacuna se inactivaba rápidamente. Como consecuencia, un grupo de veterinarios ha señalado una serie de recomendaciones que, a primera vista, parecen un poco infantiles y, sin embargo, en la práctica han dado buenos resultados. Ellos recomiendan, por ejemplo, vacunar en las primeras horas de la mañana, desde las 4 hasta las 7-8, antes de que salga el sol, habiéndose logrado, en esa forma, resultados un poco más satisfactorios.

DR. BOHL — Yo estoy completamente de acuerdo con el Dr. Vilchis porque nosotros que trabajamos en la producción de vacunas sabemos que hay 2 problemas: un problema de calidad en el momento en que se prepara la vacuna, y otro de aplicación de la misma.

DR. DUMITH — Bueno, como lo expuse antes, fue una campaña planificada por el Ministerio de Agricultura y Cría. El Centro de Investigaciones Veterinarias produce la vacuna y la transporta directamente a la zona donde se va a efectuar la vacunación. La vacunación fue hecha bajo la supervisión de veterinarios oficiales y nunca por propietarios de ganado o gente inexperta. Por eso justamente es extraño que fuera tan deficiente la inmunidad producida por una vacuna cuyos títulos están por encima de 10^4 y sus pruebas de potencia por encima de 70%.

DR. FUENZALIDA — Quisiera preguntar al Dr. Dumith si la vacuna HEP se aplica en la misma zona donde se aplica la vacuna an-

tiaftosa con virus vivo, pensando en una posible interferencia entre las dos vacunas.

DR. DUMITH — Esta vacunación se realizó en el Estado de Zulia, una de las zonas más ganaderas del país, donde existen los dos virus.

DR. FUENZALIDA — Me parece entonces que en Venezuela deberían estudiar la posibilidad de una interferencia entre las dos vacunas.

DR. SIKES — Ni el Dr. Habel ni yo tenemos información alguna sobre interferencia entre los virus de la rabia y de la aftosa. Alguien tendría que hacer una prueba en dos grupos de ganado: un grupo vacunado con vacuna antirrábica solamente y el otro con ambas vacunas. Luego se controla el suero para determinar el nivel de anticuerpos neutralizantes.

DR. WIKTOR. — Nosotros hemos estado trabajando sobre interferencia entre virus rábico y de la coriomeningitis linfocitaria, usando tanto virus vivo como inactivado. Llegamos a la conclusión de que si usábamos ambos virus vivos había interferencia, pero no ocurría si el virus de CML era inactivado. Con respecto a la aftosa, si se usaron ambos virus vivos pudo haber habido interferencia, pero esto no puede afirmarse en forma definitiva sin experimentación previa.

DR. PERRITZ — En enero de 1966, en un establecimiento muy bien manejado de Bolivia, 26.000 bovinos fueron vacunados contra la rabia con vacuna ERA, y a los mismos animales se les aplicó vacuna Frenkel contra la aftosa cada 4 meses. Nosotros hemos tomado muestras de suero de esos animales para determinar su nivel de anticuerpos pero el estudio aún no se ha realizado. Sin embargo, en este establecimiento no ha habido brotes de ninguna enfermedad.

DR. FORREST — En la provincia de Salta, en una zona de alta incidencia de rabia transmitida por murciélagos, se vacunó un lote de 100 bovinos simultáneamente con vacuna antiaftosa Frenkel y con vacuna antirrábica ERA. A los 30 días de la vacunación extrajimos muestras del suero de estos 100 animales y de otro lote que había sido vacunado solamente contra la rabia. Los títulos de seroneutralización fueron prácticamente los mismos en los 2 casos.

DR. LOPEZ — Yo creo que, en estos comentarios, hemos dejado un poco de lado algunos aspectos administrativos. Si Uds. han observado el informe de Venezuela habrán visto que, descartando el año 1964, que fue epizootico, las tasas de rabia canina han aumentado 3 veces y media como promedio nacional. Comparando con lo ocurrido en Chile vemos que nosotros aplicamos la vacunación y los programas en un área demasiado extensa, a nivel nacional, y ellos realizaron un programa regional; nosotros vacunamos en masa, ellos vacunaron ca-

sa por casa; nosotros trabajamos por períodos cortos, ellos a lo largo de períodos de 6 meses. De tal forma, yo pienso que sería útil establecer un criterio de cuál es la mejor forma de abordaje del problema desde el punto de vista administrativo puro. Si bien es cierto que tal vez haya factores que estén fuera de nuestro alcance y quizás también hayamos cometido errores, a mí me parece que el error administrativo radica fundamentalmente en la determinación de los tamaños de las áreas óptimas para el combate y del criterio temporal de cuánto deben durar las actividades.

DR. ALVAREZ — Estoy totalmente de acuerdo con lo expuesto por el Dr. López. Además estimo que es indispensable en la actualidad, ya que contamos con vacunas diversas, muchas de ellas buenas, que se tengan estructuras administrativas fuertes en cada uno de los países y fundamentalmente que existan normas que terminen con la anarquía existente en muchas partes. Normas en cuanto a los programas, con fijación de metas y objetivos bien específicos; normas en cuanto a educación sanitaria, prevención del riesgo para el hombre, prevención del riesgo para el perro; normas en cuanto a la producción de vacunas, manejo, transporte; normas con respecto al diagnóstico, en lo posible centralización del diagnóstico, lo cual permitirá conocer la magnitud del problema y sensibilizar a las autoridades para que proporcionen los recursos necesarios. Cuando las prioridades no permitan establecer un programa de tipo nacional, como bien decía el Dr. López, ubicar el ataque a las zoonosis en aquellas zonas en las que constituyen el mayor problema.

DR. MENDY — Los distinguidos representantes de los países nos acaban de exponer el paisaje epidemiológico de la rabia, esta tarde referido fundamentalmente a México, Uruguay y Venezuela. En primer lugar llama la atención que un estado como la República Oriental del Uruguay, después de tantos años, sucumbió también a los efectos del virus rábico, no sabemos si debido al límite norte o a la República Argentina. Esto nos mueve a preocupación y fue justamente vinculado a ese problema que en 1948 Uruguay, Paraguay y Argentina suscribieron, con el patrocinio de la OSP, a la sazón bajo la dirección del Dr. Fred Soper, el primer convenio sanitario internacional de los países limítrofes, donde se contemplaban dos zoonosis: hidatidosis y rabia. En relación a la rabia hay un punto que me ha llamado la atención y es la situación de los perros vagabundos. Ha habido coincidencia en que el procedimiento de eliminación del perro vagabundo mediante los bolos tóxicos resultaría inconveniente. No obstante, quisiera llevar al ánimo de los presentes que no podríamos adoptar en forma alguna un esquema rígido con respecto al procedimiento que debe seguirse en las distintas formas para la eliminación del perro vagabundo. En la República Argentina, en 1946, hubo un brote epidémico y epizootico de rabia en una provincia colindante con Chile, San Juan, una ciudad destruida por un terremoto. Al cabo de poco tiempo se vio to-

davía flagelada con la incorporación de la rabia, que se introdujo, al parecer, por medio de jaurías de perros que comenzaron a morder cerdos. Estos cerdos fueron la fuente de un brote epidémico y epizootico en el cual vimos morir semanalmente, durante 2 meses, una persona con rabia. En estas circunstancias, no es posible pensar que aquel prototipo que presentáramos hace 10 años en el primer seminario de rabia realizado en Buenos Aires en el Instituto Malbrán, consistente en un prototipo de perrera para el sacrificio de los perros mediante selmonóxido de carbono derivado del motor del vehículo, hubiera sido un procedimiento eficaz. En la ciudad destruida por el terremoto tuvimos que recurrir a las balas y a los bolos tóxicos para erradicar los perros. De manera que las recomendaciones no pueden generalizarse sino que se deben adaptar a las circunstancias. Con respecto al Uruguay, recuerdo que en la oportunidad en que se firmó el convenio sanitario internacional de 1948, un distinguido epizootiólogo uruguayo explicó que el mal uso de la perrera, sin cuarentena de los perros recogidos, puede ser contraproducente. Expresó dicho técnico, hoy fallecido, que inmediatamente después que comenzaban a salir las perreras, los brotes epizooticos de rabia se acrecentaban. Los perros se contaminaban a través de las perreras por lo cual los animales, aún vacunados, no debieran largarse, en un área enzoótica de rabia, sin cuarentena, porque el efecto de la vacuna no es inmediato.

Como de Argentina van muchos turistas al Uruguay, los ministerios que tienen responsabilidad sanitaria —la actual Secretaría de Salud Pública y la Secretaría de Agricultura y Ganadería— han organizado hace varios años la vacunación oficial obligatoria, con un certificado que viene en castellano, en inglés y en francés, con todos los datos consignados de acuerdo a las recomendaciones de la OMS. De manera que todos los perros que salen por turismo de la Argentina van provistos de un certificado que se da sólo cuando están vacunados oficialmente en las dependencias oficiales. La vacuna que está respaldando ese certificado es la del Dr. Fuenzalida, la cual ha sido empleada hasta el momento con gran éxito.

DR. ROSALES — En su intervención sobre el problema de la rabia bovina en Venezuela, el Dr. Fuenzalida tocó un aspecto muy interesante. En nuestro país, los organismos estatales están tratando de lograr acciones sanitarias efectivas contra diversas enfermedades intentando unificar los servicios de tuberculosis, aftosa y rabia para que los equipos apliquen al mismo tiempo las diferentes vacunas cuando visitan los establecimientos ganaderos. El problema de la interferencia sería un asunto muy interesante para llamar la atención sobre la necesidad de investigaciones más profundas.

DR. ESCALANTE — Quiero referirme a las palabras del Dr. Mendy. La experiencia de nuestro país nos indica que, efectivamente, la captura de perros y la reclusión de estos animales en jaulas colectivas hacen posible la diseminación de la rabia en diferentes lugares de una

ciudad, debido a que se da la oportunidad al dueño del animal de reclamarlo al cabo de 24 ó 48 horas. Por esta razón en Lima estamos cambiando el sistema poco a poco, porque ha habido reacción popular y sería contraproducente para el mismo control antirrábico el cambiar de la noche a la mañana. Hasta el año 1965, en Lima capturábamos unos 35.000 perros por año; estas cifras han bajado a 12.000 perros en el año 1956, pero aumentó la eliminación por medio de bocados hasta alcanzar la cifra de 64.000 animales. Durante 1966, debido a que fue un año de epidemia, nosotros eliminamos en 24 días 74.129 perros exclusivamente por el sistema de bolos tóxicos.

En la última campaña realizada en Lima nos pusimos la meta de vacunar 90.000 perros en 10 días como primera etapa. Logramos vacunar 77.839 animales, lo cual representa el 34,5% de la población estimada, deduciendo por supuesto los perros eliminados. Esto ha hecho disminuir los casos de rabia canina de un promedio de 43 casos mensuales a 8. Posiblemente esta incidencia va a seguir bajando conforme se vaya manteniendo el programa antirrábico iniciado.

En cuanto a la parte administrativa, quisiera consultar si alguien tiene experiencia sobre qué es mejor, un programa centralizado o un programa descentralizado por intermedio de los servicios de salud.

DR. STEELE — Depende de la situación local. En los Estados Unidos la mayoría de los programas son descentralizados hasta las unidades más pequeñas posibles, generalmente los condados. En México, sin embargo, está en realización un programa nacional, pero realmente se trabaja a nivel local.

DR. FUENZALIDA — Recién se acaba de abordar un tema, la recolección de perros y la devolución a sus dueños. Algunas personas coinciden en que esto ha contribuido a diseminar la rabia dentro de una localidad. En los programas de control hay 2 métodos: el de postas fijas y el de postas móviles. Justamente por ese problema cuando se hizo la campaña en Chile durante un período epizootico, las autoridades consideraron más conveniente utilizar el segundo método y hacerlo a domicilio.

CAPITULO V

DIAGNOSTICO DE LA RABIA E IDENTIFICACION MORFOLOGICA DEL VIRION RABICO

P. ATANASIU *

I. — INTRODUCCION

El estudio del virión rábico es aún dificultoso, pues responde mal a las nuevas técnicas virológicas: es sensible a la temperatura; no da, en cultivo de tejido, más que una citólisis parcial y un título demasiado bajo para que se pueda llevar a cabo una purificación y un análisis químico.

A pesar de ello, se han realizado considerables progresos en los diferentes aspectos de su biología: se ha desarrollado una técnica rápida de diagnóstico por inmunofluorescencia; están en experimentación nuevas vacunas preparadas en cultivo de tejido y se las aplica ya para la inmunización de animales. Los sueros antirrábicos son purificados; el esquema de tratamiento preventivo es constantemente revisado por los expertos de la OMS; se han descubierto nuevos reservorios del virus y se han desarrollado nuevas técnicas epizootiológicas; se han observado relaciones con otros virus y mutantes rábicas. En la patogénesis de la rabia es casi indispensable que el virus se multiplique localmente antes de invadir el sistema nervioso, y se ha logrado demostrar la propagación del virus por vía endovenosa.

La rabia encefalomiélica debida a un virión ha recrudecido en los últimos tiempos entre los animales salvajes (zorros, mofetas, murciélagos, etc.).

El virus se encuentra, en la fase aguda, en el sistema nervioso central, las glándulas salivales, los pulmones, los riñones, la tráquea, etc.

La enfermedad se transmite por mordedura (perro, vampiros, murciélagos) y, raramente, por vía aérea.

II. — DIAGNOSTICO DE LA RABIA

El diagnóstico de la rabia ha sido por mucho tiempo tributario de los métodos histológicos, cuyo objetivo era la búsqueda de encefalitis y corpúsculos de Negri. Esta técnica tenía el inconveniente, con respecto a la inoculación en ratones, de no detectar entre el 10 y el 25% de los casos positivos. Además, ciertos casos positivos en histo-

* Institut Pasteur, París, Francia.

logía eran negativos a la inoculación animal, pero la tasa no pasaba del 1%.

A todo animal sospechoso de haber muerto de rabia se le debe extraer el cerebro y las glándulas salivales, y luego:

- 1) realizar un examen histopatológico de impresiones, fijando trozos para cortes histológicos.
- 2) inocular el cerebro y las glándulas salivales en ratones.
- 3) colorear y examinar por inmunofluorescencia.

En general, se trata de realizar el diagnóstico de la rabia empleando las técnicas más rápidas, más exactas y más económicas.

1. — El primer método a utilizar es la técnica de Sellers ¹

Un microscopio, colorante de Sellers y un ojo avizor son suficientes para un diagnóstico muy rápido. Se procede de la siguiente manera:

a) Se exponen las partes del cerebro más ricas en lesiones histopatológicas y corpúsculos de Negri: el asta de Ammón, las células piramidales de la corteza, las células de Purkinje del cerebelo, el bulbo, etc.

b) Se realizan cortes transversales (asta de Ammón, corteza, etc.) los cuales se colocan sobre un bajalenguas de madera, con la superficie cortada hacia arriba. Se aplica varias veces sobre esta superficie una lámina portaobjetos para obtener impresiones del material cerebral en varios lugares.

c) La impresión aún húmeda se baña en colorante de Sellers, y se deja actuar varios segundos; se enjuaga con agua potable y se seca a temperatura ambiente; la preparación se protege con un cubreobjetos montado en bálsamo de Canadá. Se examina primero con poco aumento, luego con objetivo de inmersión.

d) RESULTADOS: Los corpúsculos de Negri, de formas múltiples (redondeados, ovalados, esféricos), varían en tamaño de 0,24 a 27 micrones. Tienen una reacción tintorial acidófila, rojo púrpura, y una estructura interna (microcuerpos, gránulos basófilos cuya coloración varía del azul al negro y su tamaño de 0,2 a 0,5 micrones, la disposición en roseta es rara).

e) DIAGNOSTICO DIFERENCIAL: Examinando al microscopio las impresiones provenientes de perros y zorros, se debe pensar en la enfermedad de Carré y en la de Rubarth (hepatitis infecciosa del perro y del zorro) y aún en inclusiones no específicas en el gato y el ratón. Esas inclusiones no tienen estructura interna y son refringentes. Su color es muy acidófilo.

f) VENTAJAS DE LA TECNICA: Es un método simple y rápido a disposición de todos los laboratorios; se realiza sin fijación previa. El tejido es fijado y coloreado simultáneamente.

g) Se recomienda utilizar cerebros frescos y mantener en cuarentena (10 días) a los animales sospechosos a fin de sacrificarlos, si fuera necesario, en plena enfermedad.

2. — Las técnicas de diagnóstico histopatológico

Las coloraciones de Mann y Giemsa son las más empleadas. La técnica de Mann es ejecutada, incluyendo la fijación, en 2 ó 3 días. Permite descubrir la extensión de la encefalitis, la localización de los corpúsculos de Negri y su estructura. El nucleolo de la célula aparece rojo violáceo, la cromatina azul, los hematíes rosados. Las inclusiones intracitoplásmicas se colorean de rojo vivo.

3. — La inoculación en ratones

Por su constante susceptibilidad al virus rábico, el animal de elección es el ratón. Se hace una dilución al 10% de cerebro sospechoso, o de glándulas salivales. Generalmente, se agregan antibióticos a esta emulsión para prevenir eventuales contaminaciones bacterianas (penicilina y estreptomycin). Ratones de 14 a 16 g. son inoculados, por vía intracerebral, con 0,03 ml. de emulsión previamente centrifugada (1000 rpm durante 5 minutos). Los síntomas de enfermedad comienzan a manifestarse hacia los 8-10 días, pero el período de observación debe prolongarse hasta el 30° día. Los animales enfermos son sacrificados y se examinan los cerebros para detectar los corpúsculos de Negri (Sellers, histopatología e inmunofluorescencia).

4. — La técnica de inmunofluorescencia

Para el diagnóstico de la rabia, la técnica de la inmunofluorescencia es considerada la más precisa y generalmente se la recomienda como técnica de elección si existe la posibilidad (microscopio de luz UV, conjugado de buena calidad y personal calificado).

Se sabe que el diagnóstico histopatológico de la rabia consiste en la búsqueda de corpúsculos de Negri, ya sea sobre las impresiones de cerebro o de glándulas salivales de los animales naturalmente infectados, o sobre cortes histológicos. Estas técnicas dan hasta un 25% de resultados negativos en muestras confirmadas como positivas por inoculación en ratones.

La técnica de inmunofluorescencia es un método inmunológico de diagnóstico. Por medio de un microscopio de fluorescencia se pone en evidencia la reacción antígeno-anticuerpo, después de marcar los anticuerpos, o más raramente el antígeno, con una sustancia fluorescente.

APLICACION

Material sospechoso, recolección, fijación y conservación

La primera precaución a tomarse es la de trabajar en las mejores condiciones de esterilidad (para el operador y el medio am-

biente) antes y a veces aún después de la fijación; y la segunda precaución será la de insolubilizar los antígenos sin alterar su actividad inmunológica por una fijación rápida y a baja temperatura. Las impresiones se preparan a partir de ciertos órganos recién extraídos (cerebro, ganglios, nervios, etc.), o mantenidos a 4°C por un corto período de tiempo. Después del secado y la esterilización del material con luz UV (5 minutos) se fija y se colorea con anticuerpos fluorescentes.

Ejemplo de coloración directa para el diagnóstico de rabia

—Ratones inoculados con virus rábico de calle son sacrificados hacia el 8º-10º día después de la inoculación.

—Se extraen los cerebros y se colocan en el fondo de una caja de Petri. Se practica un corte sagital a nivel del quiasma óptico y se utiliza la parte posterior del cerebro colocándolo sobre un bajalenguas de madera, para efectuar sobre varias láminas histológicas dos impresiones distantes 2 cm. una de la otra.

—Para un cerebro sospechoso se preparan dos láminas del asta de Ammón, dos del cerebelo, dos de la corteza y dos del bulbo; para las glándulas salivales, dos láminas de 6 lugares diferentes.

Las láminas son secadas 10 minutos a la temperatura ambiente, luego fijadas 10 minutos en acetona a -20°C.

Sobre cada lámina, una de las impresiones recibe una o dos gotas de globulina antirrábica conjugada, tratada con cerebro normal al 20%, mientras que la otra impresión recibe una o dos gotas de globulina antirrábica tratada con cerebro de ratón infectado al 20%.

Se procede igual para las impresiones con frotis de cerebro normal y cerebro rábico. Las láminas se colocan durante 30 minutos a 37°C en atmósfera húmeda.

Se lavan durante 10 minutos en un baño conteniendo agua fisiológica tampón pH 7,2; se enjuagan en un segundo baño con la misma solución y luego con agua destilada.

Después de secarlas, se monta sobre cada impresión una lamini-lla con ELVANOL* o glicerina tamponada.

RESULTADOS

El cerebro normal debe quedar negativo en las dos impresiones. Las impresiones positivas tratadas con la globulina más 20% de cerebro normal presentarán corpúsculos fluorescentes de tamaño y de forma variable, libres o intracitoplásmicos (Figs. 8, 9). (Ver esquema I de la técnica).

* Para la técnica de preparación del ELVANOL, ver Anexo I.

Resultados e investigaciones

Goldwasser y Kissling^{2,3}, Kaplan y col.⁴, Etchebarne⁵, han aplicado la técnica de Coons para obtener evidencia específica del antígeno viral de la rabia. Luego McQueen y col.⁶ han confirmado el valor del método por medio de un estudio comparativo entre la coloración histológica, la inoculación en ratones y la inmunofluorescencia.

Sobre un total de 825 cerebros provenientes de animales sospechosos de infección natural (perros, gatos, zorros, murciélagos, bovinos, etc.) 66% dieron resultado positivo por coloración de Sellers y 70% por inmunofluorescencia e inoculación animal.

Carski y col.⁷ han demostrado que, en las muestras de glándulas salivales controladas por los mismos métodos (inoculación en ratones e inmunofluorescencia) la sensibilidad de ambas no es igual. Inocularon 46 mofetas y zorros con rabia de calle: 31 sobre 41 muestras de glándulas salivales mostraron la presencia de virus por los dos métodos; 6 animales dieron resultados dudosos por el método de anticuerpos fluorescentes y positivos por inoculación en ratones. Una glándula salival resultó positiva a la inoculación en ratones y negativa a la inmunofluorescencia. Tres glándulas salivales positivas a los anticuerpos fluorescentes, fueron negativas a la inoculación animal. No se trataba de una fluorescencia falsa, pues el antígeno reveló ser, sin duda, el de la rabia; además, los sueros de esos animales, extraídos antes de su muerte, han mostrado un fuerte poder neutralizante que dificultó el aislamiento del virus.

Girard y col.⁸, examinando 520 cerebros de murciélagos por medio de la inmunofluorescencia, encontraron 8 muestras positivas, solamente 7 de las cuales fueron positivas por inoculación en ratones. El cerebro negativo a la inoculación habría resultado positivo también a la coloración de Sellers.

Lennette y col.⁹ han empleado la técnica de inmunofluorescencia, inoculación en ratones y examen histoquímico sobre 4.000 muestras sospechosas de rabia, provenientes de 14 especies diferentes. La globulina antirrábica fue obtenida sobre hamster. Entre el material recibido había más de 3.000 muestras enviadas en glicerina, las cuales fueron examinadas sin dificultad. Dos muestras fueron positivas a la inoculación animal y negativas a la inmunofluorescencia, pero al repetirse esta última prueba pudieron observarse pequeños corpúsculos fluorescentes. Seis casos resultaron positivos a la inmunofluorescencia y negativos a la inoculación en ratones. Cuatro fueron positivos por la coloración de Sellers.

Wilsnack¹⁰ observó el mismo fenómeno de inmunofluorescencia positiva e inoculación en ratones negativa en un estudio experimental de rabia sobre varias especies animales (perros, monos, mofetas, vacas). Los extractos de glándulas salivales y de cerebro de esos animales mostraron efecto neutralizante sobre el virus CVS hasta la dilución 1/2800.

Villa y Alvarez ¹¹, sobre 40 vampiros, han encontrado 26 positivos a la inmunofluorescencia (cerebro, glándulas salivales, grasa interescapular y riñón). La coloración de Sellers dio resultados positivos en 23 de las muestras. En ningún caso pudo transmitirse el virus a los ratones.

La técnica indirecta de los anticuerpos fluorescentes (TIAF) es utilizada para la investigación de los anticuerpos específicos y también para su titulación.

Thomas y col. ¹² han utilizado esta técnica comparándola con la de neutralización.

Los resultados de las dos técnicas concordaron en 80-90% de los sueros positivos, sobre 588 casos. Pero 78 muestras de las examinadas fueron positivas para la inmunofluorescencia y negativas para la seroneutralización. Los registros correspondientes indicaban que todos esos casos habían comenzado a recibir vacunación preventiva, a menudo incompleta. Por el contrario, 166 casos que no habían recibido ninguna vacunación fueron negativos por los dos métodos.

Podemos concluir que, para la rabia, la técnica indirecta de los anticuerpos fluorescentes es más sensible que la seroneutralización. Este hecho se debería, bien a la presencia de dos o varios sistemas antígeno-anticuerpo puestos en evidencia por esta técnica, o bien, simplemente, a que el umbral de sensibilidad de la reacción antígeno-anticuerpo para las dos técnicas se encuentra a diferente nivel.

El método directo, a partir de impresiones dobles de cerebros frescos o de glándulas salivales, fijadas en acetona fría y coloreadas con dos diluciones separadas de un conjugado antirrábico (una en emulsión de cerebro de ratón normal y la otra en emulsión de cerebro rábido) es la técnica de elección para un diagnóstico específico y rápido de la rabia.

El operador debe tener una gran experiencia y una práctica constante.

III. — EL VIRION RABICO

Aspecto morfológico del virión rábico: A partir de 1950, numerosos investigadores han realizado ensayos para estudiar el virus rábico por medio del microscopio electrónico, a nivel de las inclusiones, a partir de cerebros de animales atacados de rabia ¹³⁻¹⁶.

El virus ha sido observado al nivel del cuerno de Ammón de los ratones por medio de cortes ultra finos ¹⁷⁻¹⁸. A partir de secciones de cultivo de tejido hechas en un crióstato a -20°C y tratadas directamente por coloración negativa, Almeida y col. ¹⁹ han entrevisto una estructura del virus semejante a la de los mixovirus. Además, sobre cortes del cuerno de Ammón obtenidos en frío y coloreados con ácido fosfotúngstico, se ha podido descubrir su estructura ²⁰.

Más recientemente, siendo la multiplicación de las diferentes cepas del virus rábico abundante y relativamente rápida en células

de riñón de hamster²¹⁻²⁶, embrión de pollo²⁷, en células diploideas humanas²⁸, y sobre células de riñón de cerdo²⁹⁻³⁰, ha sido posible situar el virus en las diferentes partes del citoplasma celular y entrever su estructura morfológica en cortes y después de purificación.

El método de placas, desarrollado por K. Habel³¹, retomado por Yoshino y col.³², se aplica corrientemente gracias a una nueva técnica recientemente publicada³³.

La partícula virión ha podido ser identificada inmunológicamente al microscopio electrónico bajo tres aspectos morfológicos: forma filamentosa, forma ligeramente alargada y forma redonda^{24, 34}.

Materiales y métodos

a) *Cultivo y cosecha del virus*: Las células de riñón de hamster o de embrión de pollo se siembran con virus rábico ya adaptado a cultivo de tejido (virus calle, fijo, Flury HEP, SAD-4). Se mantienen los cultivos a 37°C, cambiándose el medio cada 3-5 días. La cosecha del líquido sobrenadante se hace entre el 8º y el 12º día (entre el 4º y el 5º día para el virus Flury). El líquido sobrenadante se usa para concentración, mientras que las células son fijadas, previo lavado, con glutaraldehído y con ácido ósmico, y sirven para la preparación de cortes ultra finos.

b) *Concentración del virus*: Las suspensiones de las botellas Roux, inoculadas y testigos, son cosechadas desde la aparición de una ligera citólisis, sea a partir del 8º-12º día para las células de riñón de hamster o del 4º-5º días para los cultivos de embrión de pollo (virus HEP). Después de una centrifugación a 2000 g., a 4°C durante 20 minutos, el líquido sobrenadante se centrifuga una vez a 144.000 g. durante 90 minutos (Rotor Spinco 40). El residuo es suspendido en 0,01 del volumen inicial. Después de una nueva centrifugación a 2000 g. se recoge el líquido sobrenadante conteniendo el virus parcialmente purificado. Para ciertas cepas, el concentrado contiene más de $10^{8,5}$ partículas por cada 0,03 ml. inoculados a los ratones²²⁻²³.

Los líquidos sobrenadantes, infectados o testigos, son mezclados en partes iguales con una solución de ácido fosfotúngstico al 1% llevada a pH 7,2 con soda. Después de un contacto de 1-2 minutos, los líquidos a estudiar son repartidos sobre membranas de colodión.

c) *Doble fijación de las células, secciones ultra finas y doble coloración de los cortes*: Las células infectadas o las testigo son lavadas en una solución tampón de fosfato pH 7,2 y luego fijadas en una solución tamponada pH 7,2 de glutaraldehído al 4%, durante 60 minutos y a temperatura ambiente. Se lavan nuevamente las células 4 ó 5 veces con una solución isotónica de fosfato. La segunda fijación se hace a 4°C, en una solución tamponada isotónica de ácido ósmico al 1% (Millonig.), durante 1 hora.

Después de deshidratación en varios alcoholes de concentración creciente, se hacen las inclusiones en araldita o Epon. Los cortes finos, obtenidos por la técnica habitual, son coloreados con acetato de uranilo al 5% durante una hora. Luego, después de lavados, se los coloca en una solución de citrato de plomo durante un período de 30 segundos a 2 minutos. Los cortes se examinan con microscopio Siemens EMI.

d) *Identificación inmunológica del virión rábico en cultivo celular por los anticuerpos fluorescentes específicos conjugados con ferritina:* La conjugación de las globulinas rábicas con ferritina es realizada según la técnica de Singer y Schick³⁵. Se utilizan globulinas antirrábicas obtenidas por fraccionamiento con sulfato de amonio de suero hiperinmune de caballo. Antes de utilizarlas, las globulinas conjugadas son puestas en contacto durante 5 minutos con las células normales, a fin de suprimir las eventuales reacciones no específicas. Las células infectadas y las células normales, después de lavarlas dos veces con una solución fisiológica tamponada pH 7,4, son despegadas con la ayuda de una espátula y lavadas de nuevo dos veces, centrifugando a poca velocidad.

El residuo celular es mezclado lentamente con 0,25 ml. de solución de globulinas conjugadas. Después de un contacto de 5 minutos a temperatura ambiente, y luego de una centrifugación a poca velocidad, se lava abundantemente dos veces con la misma solución fisiológica pH 7,4. Las células son entonces fijadas por ácido ósmico, luego deshidratadas y sumergidas en araldita.

Después de la conjugación con ferritina se controla la integridad de los anticuerpos tratando sucesivamente impresiones de cerebro de ratón, infectados o no, con las globulinas antirrábicas o normales conjugadas con isotiocinato de fluoresceína. Las impresiones son entonces examinadas por medio del microscopio de fluorescencia. Si las globulinas conjugadas con ferritina no han sido alteradas inmunológicamente, se pasa a las técnicas de microscopía electrónica.

e) *Resultados:* Según los trabajos de diferentes autores sobre la morfología del virus rábico observado al microscopio electrónico, se puede concluir que el mismo está constituido de una membrana y una nucleocapside. Es un virión ARN^{36, 37}, de simetría helicoidal monocatenaria, siendo el diámetro interno de la hélice de 100 Å³⁸.

El examen sobre cortes o después de purificación permite observar una morfología bastante constante. Por lo general, la forma es oblonga o redondeada (sección transversal). Más raramente filamentososa. El diámetro es constante.

A continuación enumeraremos las características morfológicas del virus, examinado en cortes finos:

—Tiene un tamaño más pequeño que el virus obtenido por purificación y coloreado por ácido fosfotúngstico.

—El virus rábico cepa Pasteur, Flury HEP, SAD-4 y una cepa recientemente aislada (de calle), se encuentra en el citoplasma de las células infectadas y se separa a partir de las membranas intra y extracelulares (Figs. 1, 2, 3, 4).

—El virión rábico tiene una estructura que, de adentro hacia afuera, muestra sucesivamente: una zona clara, una membrana más opaca y una envoltura externa apenas visible (Fig. 5). Su forma es ligeramente alargada.

—Se pueden observar tres formas morfológicas: una forma redondeada, que es muy común y que, probablemente, no es más que la sección transversal de la forma alargada; ésta, que es la más frecuente, presenta una extremidad redondeada que le da el aspecto de una bala de cañón; y, en fin, la forma filamentosa. Estas tres formas tienen un diámetro que varía entre 600 y 800 Å y su longitud media es de 1200 Å; la forma filamentosa alcanza más de 3000 Å.

—El virus purificado y coloreado por el ácido fosfotúngstico presenta frecuentemente la forma alargada, con una extremidad redondeada que le da el aspecto de una bala de cañón; su longitud media varía entre 1500 y 1650 Å y su ancho entre 1000 y 1300 Å (Fig. 7).

—En la periferia del virión se pueden observar estructuras radiales ("spiny") como se encuentran en los mixovirus, con un ancho que varía entre 80 y 100 Å. A veces se nota la estructura helicoidal del ácido nucleico, ya sea en el interior o en el exterior del virión (Fig. 7).

—Las tres formas morfológicas del virus rábico (cepa Pasteur y cepas calle) fijan específicamente el conjugado ferritina-globulinas antirrábicas, lo cual confirma su especificidad inmunológica (Figura 6)²⁵. O simplemente el virión fija el suero antirrábico²⁶ el cual es puesto en evidencia por coloración con ácido fosfotúngstico.

—Las inclusiones, de tipo corpúsculos de Negri, que se ven en histología sobre impresiones sometidas a coloración directa con anticuerpos fluorescentes, han sido identificadas sobre cerebro de animal como focos intracitoplásmicos de multiplicación del virus rábico³⁹; lo mismo sobre cultivos de tejidos inoculados con el virus calle²⁵.

—Los tres tipos morfológicos de virus rábico han sido puestos en evidencia, ya sea por una técnica directa o después de fijación y ejecución de cortes finos a partir del cerebro de ratón o cultivos de tejido inoculados con diferentes cepas del virus^{18, 19, 20, 24, 26, 27, 38, 39}.

IV. — CONCLUSIONES

Se puede concluir que el virión se multiplica por brotación a partir de la membrana citoplásmica periférica o del retículo endoplásmico, cisternas y vesículas citoplásmicas. Que el virus rábico tiene

una longitud media de 1300 Å y un ancho de 100 Å. Es un virus ARN constituido por una membrana y una nucleocapside. La hélice monocatenaria tiene un diámetro interno de 100 Å y su diámetro externo mide 150 Å. Sobre la hélice se disponen las unidades de estructura proteica iguales en forma y tamaño. Tienen un espesor de 25 Å, 55 Å de largo y 30 Å de ancho. En la parte interna y en sentido longitudinal, hay un pequeño canal semicircular. A este nivel, cada unidad de estructura se engancha al filamento ARN. Estas unidades de estructura, a su vez, se disponen en hélice flexible. La hélice está ovillada en el interior de la membrana, verosimilmente de naturaleza lipoidea. En la periferia se encuentran proyecciones de 80-100 Å.

La estructura interna helicoidal (ARN), la sensibilidad al éter, a la temperatura, al pH, todo esto relaciona al virión rábico con el grupo de los virus morfológicamente idénticos: virus sigma del heredero ⁴⁰, de la enfermedad hemorrágica de la trucha ⁴¹, virus de la lechuga ⁴² (Ver Cuadro I). Así mismo se ha observado la transmisión de una mutante rábica a las drosófilas ⁴³.

El poder de hemaglutinar ciertas especies de hematíes, y la relación morfológica con los viriones citados, hacen pensar que encontrará fácilmente su lugar dentro de una futura nueva clasificación.

ANEXO I

Técnica para la preparación del ELVANOL 51-05 ⁴⁴

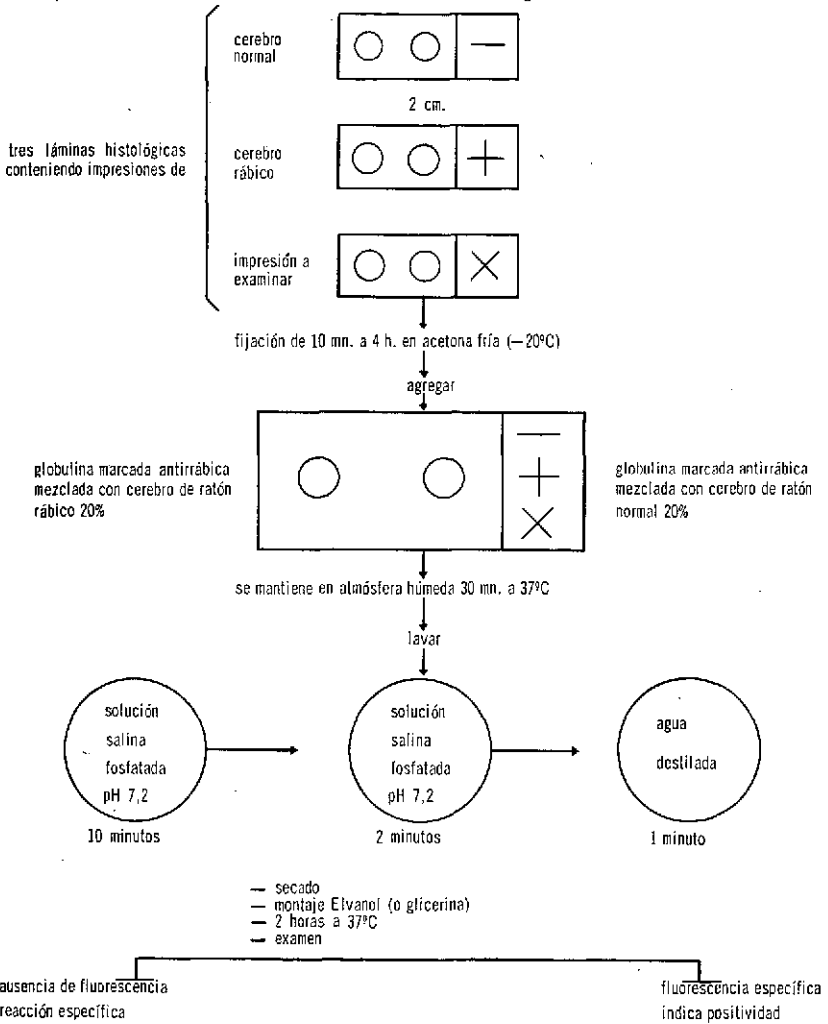
- 1) Se disuelven 20 g. de ELVANOL 51-05 en 80 ml. de solución tampón (0,14 M ClNa; 0,01 M KH_2PO_4 - $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) de pH final 7,2 agitando durante 16 horas sobre agitador mecánico.
- 2) Se agregan 40 ml. de glicerina a 80 ml. de la mezcla anterior y se agita nuevamente 16 horas sobre agitador mecánico.
- 3) Se eliminan las partículas de ELVANOL no disueltas, centrifugando a 12.000 rpm durante 15 minutos.
- 4) El sobrenadante, cuyo pH debe situarse entre 6 y 7, se mantiene a resguardo del aire.
- 5) El líquido tiene las siguientes características: no es fluorescente, se polimeriza después de 2 horas a 37°C bajo la forma de un gel semisólido, se evapora sin dejar burbujas de aire y su pH se mantiene entre 6 y 7.

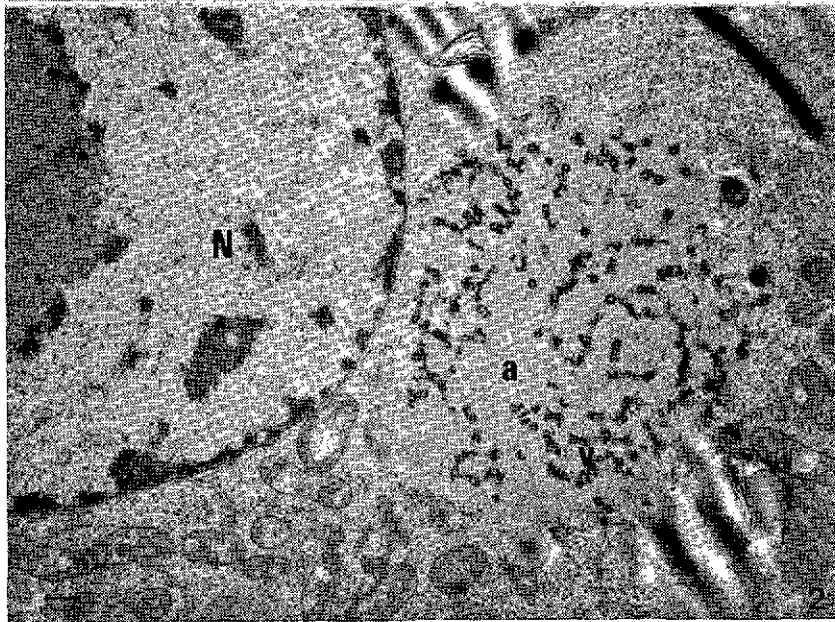
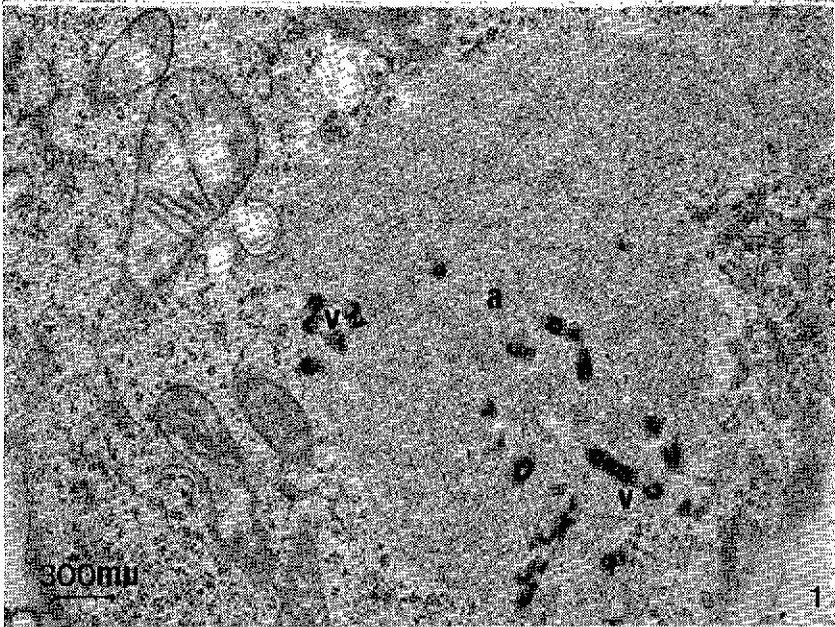
CUADRO I

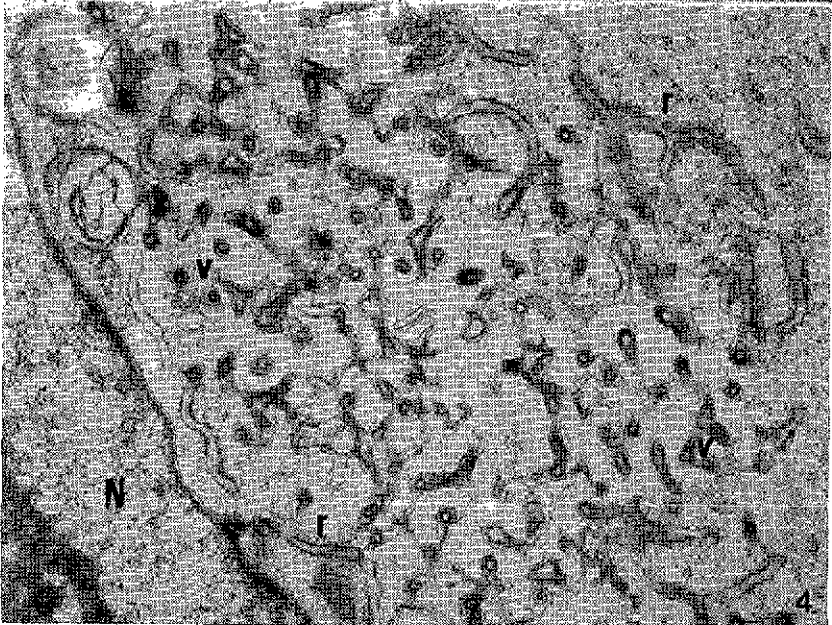
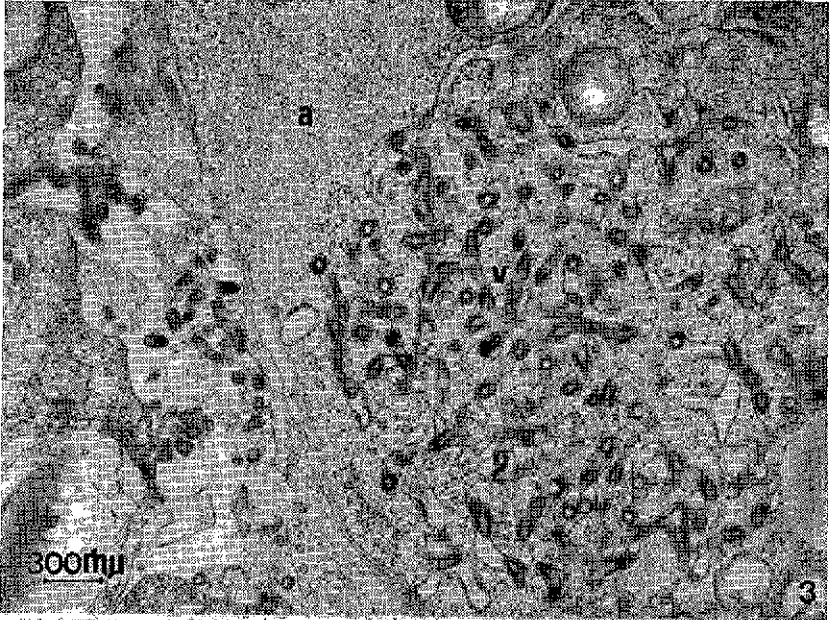
Morfología de los viriones (animales, insectos, plantas)
que se asemejan al virus rábico

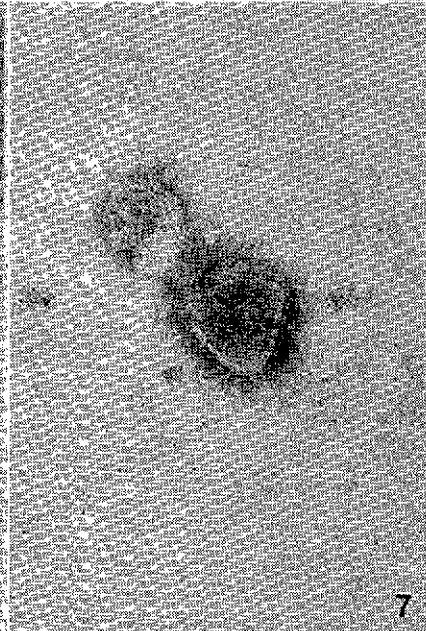
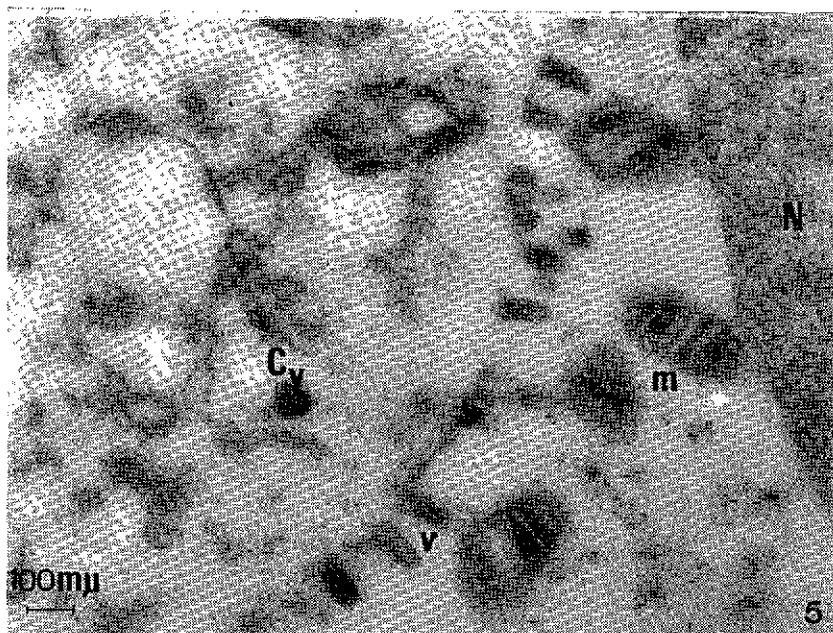
Virión	MORFOLOGÍA EXTERNA				MORFOLOGÍA DE LA NUCLEOCAPSIDE		Lugar de formación del virión
	Forma	ancho — largo	Proyecciones	Estricción externa	Díametro hélice	Dimensiones de las unidades de estruct. ancho, largo, espesor	
Rabia	redonda alargada filamentososa	$\frac{600^{\circ}}{3000}$ Å	100 Å	+	150 Å	55 Å 30 Å 25 Å	Membrana celular retículo endoplásmica
Sigma del heredero	redonda alargada	$\frac{700^{\circ}}{3000}$ Å	+	+	8 —	—	Membrana celular
V. Cocal	redonda alargada filamentososa	$\frac{600^{\circ}}{1700}$ Å	100 Å	+	—	—	Membrana celular retículo endoplásmica
EGTVED (VHS)	redonda alargada filamentososa	$\frac{600^{\circ}}{1800}$ Å	+	55 Å	200 Å	80 Å	Membrana celular retículo endoplásmica
VSV	redonda alargada filamentososa	$\frac{680^{\circ}}{1750}$ Å	100 Å	45 Å	150 Å	50 Å	Membrana celular retículo endoplásmica
Virus de la lechuga	redonda alargada filamentososa	$\frac{680^{\circ}}{2270}$ Å	+	45 Å	8 —	—	Membrana celular retículo endoplásmica

ESQUEMA DE COLORACION DIRECTA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA RABIA









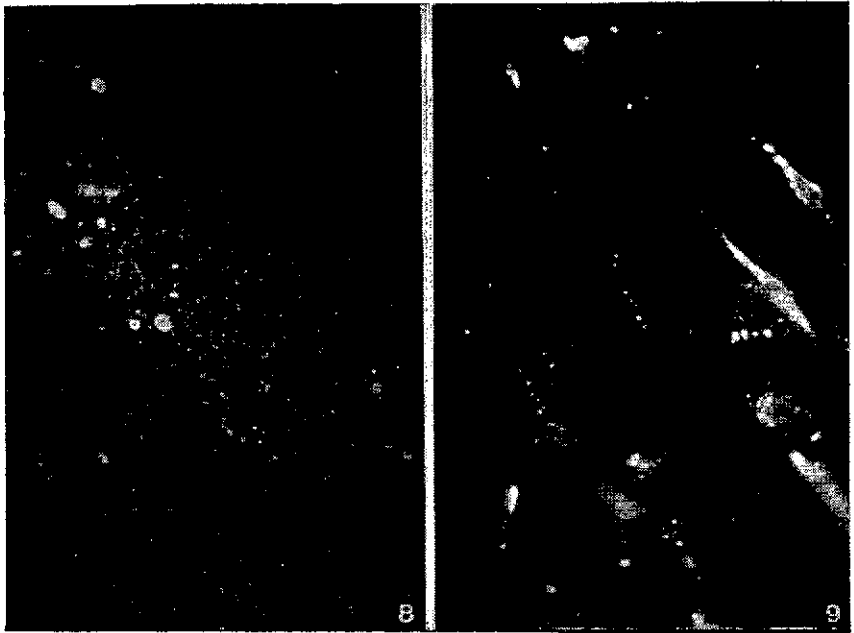


FIGURA N° 1

Rabia fija, cepa Pasteur, en cultivo de tejido (células BHK₂₁C₁₃). Corte de la región del citoplasma a los 10 días después de la inoculación; zona central sin estructura y sin ribosomas (a); se notan varios viriones en secciones transversales y longitudinales y esbozos de membrana. El virus se compone de una envoltura periférica (2 membranas) y una parte central vacía; la zona periférica es rica en ribosomas, polirribosomas y mitocondrias.

Atanasiu, P. y Sisman, J., Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 2

Sección transversal de una célula a nivel del núcleo y citoplasma, en una etapa más avanzada. El citoplasma contiene muchos más viriones en pleno período de formación. Se nota siempre la presencia de los viriones en la misma zona (a) y que cada virión se encuentra rodeado por una membrana. Esta zona está rodeada por cantidad de mitocondrias y ribosomas, polirribosomas y retículos endoplásmicos.

Atanasiu, P. y Sisman, J., Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 3

Presencia de 2 zonas en el citoplasma: una periférica, sin estructura (a) y una central con viriones. Es de notar que en esta zona hay viriones de diferentes formas (redondos, alargados y filamentosos), los cuales se encuentran rodeados por una membrana proveniente del retículo endoplásmico; sobre ella se disponen ribosomas y polirribosomas

Atanasiu, P. y Sisman, J., Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 4

En el citoplasma de otras células puede observarse que la masa de retículo endoplásmico con sus ribosomas y polirribosomas precede la aparición de virus completos que se encuentran siempre en el interior de estas cisternas o vesículas. N = núcleo, R = retículo endoplásmico, V = virus.

Atanasiu, P., Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 5

Rabia de calle en cultivo de tejido (células BHK₂₁C₁₂). Corte de la región del citoplasma y núcleo, 12 días después de la inoculación. Dentro del citoplasma se observan viriones que se despegan de una membrana intra-citoplásmica; los viriones (V) son alargados, rodeados por una envoltura de doble membrana. N = núcleo, M = mitocondria, CY = citoplasma.

Atanasiu, P. y Sisman, J., Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 6

Rabia fija en cultivo de tejido. Sección transversal a nivel de la membrana citoplásmica. Presencia de 2 viriones rábicos, fuera de la célula, en sección transversal, rodeados e identificados específicamente por la ferritina conjugada con globulinas antirrábicas.

Atanasiu, Orth, Sisman y Barreau, Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 7

Rabia de calle purificada y luego coloreada por ácido fosfotúngstico. Virión de forma alargada con envoltura y franja periféricas. Por transparencia, se nota la nucleocapside.

Atanasiu, Lépine, Sisman, Dauguet y Wetten, Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 8

Impresiones de rabia de calle de la región del cuerno de Ammón. Presencia de pequeños y grandes corpúsculos de Negri, en coloración directa por globulinas antirrábicas marcadas con isotiocianato de fluoresceína.

Anatasiu, P. y Sisman, J., Institut Pasteur, Service des Virus

FIGURA N° 9

Rabia fija, cepa Pasteur, en cultivo de tejido (células BHK₂₁C₁₂). Coloración con isotiocianato de fluoresceína. Presencia de pequeñas, medianas y grandes inclusiones en el citoplasma y en el exterior.

Atanasiu, Favre y Jauneau, Institut Pasteur, Service des Virus

REFERENCIAS

¹ Sellers, T. F.; Fellow, P. H. A new method of staining Negri bodies of rabies. *Amer. J. publ. Hlth.*, 17: 1080, 1927.

² Goldwasser, R. A.; Kissling, R. E. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)*, 98: 219, 1958.

³ Goldwasser, R. A.; Kissling, R. E.; Carski, T. R.; Hosty, T. S. Fluorescent antibody staining of rabies virus antigens in the salivary glands of rabid animals. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 20: 579, 1959.

⁴ Kaplan, M. M.; Forsek, Z.; Koprowski, H. Demonstration of rabies virus in tissue culture with fluorescent antibody technique. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 22: 434, 1960.

⁵ Etchebarne, M.; Bernal, P. G.; Leyton, G. R. Purification of rabies antibodies in horse serum and diagnostic importance of the fluorescent antibody technique. *J. Immunol.*, 89: 6, 1960.

- ⁶ McQueen, J. L.; Lewis, A. L.; Schneider, N. J. Rabies diagnosis by fluorescent antibody. II. Its evaluation in a public laboratory. *Amer. J. publ. Hlth.*, 50: 1743, 1960.
- ⁷ Carski, T. R.; Wilsnack, R. E.; Sikes, R. K. Pathogenesis of rabies in wildlife. II. Fluorescent antibody studies. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 448, 1962.
- ⁸ Girard, K. F.; Hitchcock, H. B.; Edsall, G.; McCreedy, R. A. Rabies in bats in southern New England. *New Engl. J. Med.*, 272: 75, 1965.
- ⁹ Lennette, E. H.; Woodie, J. D.; Nakamura, K.; Magoffin, R. L. The diagnosis of rabies by fluorescent antibody methods (FRA) employing immune hamster serum. *Hlth. Lab. Sci.*, 2: 24, 1965.
- ¹⁰ Wilsnack, R. E.; Parker, R. L. Pathogenesis of skunk rabies virus: rabies inhibiting substance as related to rabies diagnosis. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 39, 1966.
- ¹¹ Villa, B. R.; Alvarez, B. L. Rabies virus in kidney and other tissues of vampire bats in Western Mexico. *Zoon. Res.*, 2: 77, 1963.
- ¹² Thomas, J. B.; Sikes, R. K.; Ricker, A. S. Evaluation of indirect fluorescent antibody technique for detection of rabies antibody in human sera. *J. Immunol.*, 91: 721, 1963.
- ¹³ Reagan, R. L.; Brueckner, A. L. Electron micrographs of Negri bodies found in rabies. *J. inf. Dis.*, 87: 213, 1950.
- ¹⁴ Hottle, G. A.; Morgan, C.; Peers, J. H.; Wickoff, R. W. G. The electron microscopy of rabies inclusion (Negri) bodies. *Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)*, 77: 721, 1951.
- ¹⁵ Lépine, P.; Croissant, O. Microscopie électronique des corps de Negri dans la rage des rues. Méthodes de repérage et d'examen des coupes histologiques en microscopie électronique. *Ann. Inst. Pasteur*, 31: 1, 1951.
- ¹⁶ Croissant, O.; Lépine, P.; Wickoff, R. W. G. Recherches sur l'ultrastructure des corps de Negri examinés au microscope électronique. *Ann. Inst. Pasteur*, 39: 183, 1955.
- ¹⁷ Roots, E. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Gehirnen bei der experimentellen Tollwutinfektion. *Z. Virusforsch.* 17: 156, 1962.
- ¹⁸ Matsumoto, S. Electron microscopy of nerve cells infected with street rabies virus. *Virology*, 17: 198, 1962.
- ¹⁹ Almeida, J. D.; Howatson, A. F.; Pinteric, L.; Fenje, P. Electron microscope observations on rabies virus by negative staining. *Virology*, 18: 147, 1962.
- ²⁰ Pinteric, L.; Fenje, P.; Almeida, J. D. The visualization of rabies virus in mouse brain. *Virology*, 20: 208, 1963.
- ²¹ Kissling, R. E. Growth of rabies virus in non-nervous tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)*, 98: 223, 1958.
- ²² Atanasiu, P.; Lépine, P.; Dighe, P. Purification partielle et concentration de virus rabique des rues, cultivé sur souche clonale de rein de hamster. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 256: 1415, 1963.
- ²³ Atanasiu, P.; Lépine, P.; Dragonas, P. Etude cinétique du virus rabique en culture de tissus à l'aide des anticorps fluorescents et des coupes ultrafines. *Ann. Inst. Pasteur*, 105: 813, 1963.
- ²⁴ Atanasiu, P.; Lépine, P.; Sisman, J.; Dauguet, C.; Wetten, M. Etude morphologique du virus rabique des rues en culture de tissu. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 256: 3219, 1963.
- ²⁵ Atanasiu, P.; Orth, G.; Sisman, J.; Barreau, C. Identification immunologique du virion rabique en cultures cellulaires par les anticorps spécifiques conjugués à la ferritine. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 257: 2204, 1963.
- ²⁶ Hummeler, K.; Koprowski, H.; Wiktor, T. J. Structure and development of rabies virus in tissue culture. *J. Virol.*, 1: 152, 1967.

- ²⁷ Davies, M. C.; Englert, M. E.; Sharpless, G. R.; Cabasso, V. J. The electron microscopy of rabies virus in cultures of chicken embryo tissues. *Virology*, 21: 642, 1963.
- ²⁸ Wiktor, T. J.; Fernandes, M. V.; Koprowski, H. Cultivation of rabies virus in human diploid cells strain WI-38. *J. Immunol.* 93: 353, 1964.
- ²⁹ Abelseth, M. K. Propagation of rabies virus in pig kidney cells cultures. *Canad. vet. J.*, 5: 84, 1964.
- ³⁰ Mikhailovsky, E. M.; Iliasova, R. Sh. Propagation of street rabies virus in cell cultures of different origin. *International Symposium on Rabies, Talloires, 1965*. Karger, Basel-New York, 1966.
- ³¹ Habel, K. Comunicación personal, 1964.
- ³² Yoshino, K. S.; Taguchi, A. K. Plaque assay of rabies virus in chick-embryo cells. *Arch. Virusforsch.*, 18: 370, 1966.
- ³³ Sedwick, W. D.; Wiktor, T. S. A reproducible plaquing system for rabies and lymphocitic-choriomeningitis viruses (LCM) and other RNA viruses in BHK₂₁, 13S agarose suspensions. In prensa.
- ³⁴ Atanasiu, P.; Sisman, J. L'aspect morphologique du virion rabique. *Bull. Off. int. Epiz.*, 67: 521, 1967.
- ³⁵ Singer, S. J.; Schick, A. F. The properties of specific stains for electron microscopy prepared by the conjugation of antibody molecules with ferritin. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 9: 519, 1961.
- ³⁶ Lépine, P.; Atanasiu, P. Sur la nature du virus rabique. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 256: 4783, 1963.
- ³⁷ Kissling, R. E.; Reese, D. R. Antirabies vaccine of tissue culture origin. *J. Immunol.*, 91: 362, 1963.
- ³⁸ Pinteric, L.; Fenje, P. Electron microscopic observations of the rabies virus. *International Symposium on Rabies, Talloires, 1965*. Karger, Basel-New York, 1966.
- ³⁹ Miyamoto, K.; Matsumoto, S. The nature of the Negri body. *J. Cell Biol.*, 27: 677, 1965.
- ⁴⁰ Berkałoff, A.; Bregliano, J. C.; Chanessian, A. Mise en évidence de virus dans des drosophiles infectées par le virus héréditaire. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 260: 5956, 1965.
- ⁴¹ Zwillenberg, H. L. Electron microscopy of the virus of viral haemorrhagic septicaemia of rainbow trout (Egtved virus). *Arch. ges. Virusforsch.*, 17: 1, 1965.
- ⁴² Harrison, B. D.; Crowley, N. C. Properties and structure of lettuce necrotic Yellows virus. *Virology*, 26: 297, 1965.
- ⁴³ Plus, N.; Atanasiu, P. Sélection d'un mutant du virus rabique adapté à un insecte. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 263: 89, 1966.
- ⁴⁴ Rodríguez, J.; Deinhardt, F. Preparation of a semipermanent mounting medium for fluorescent antibody studies. *Virology*, 12: 316, 1960.

Comentarios

DR. ABELSETH — Algunos de mis colaboradores en los laboratorios Connaught encontraron que el agregado de antisuero a la partícula de virus rábico era muy importante para su identificación con el microscopio electrónico. Encontraron también, en estudios de microscopía electrónica, que virus aislados en cultivo de tejido de diferentes fuentes (varios animales y tejidos) eran virus rábicos.

Con respecto al diagnóstico de la rabia, el Dr. Atanasiu subrayó el uso del método microscópico directo con tinción de Sellers. En el Departamento de Salud del Estado de Nueva York es práctica común el realizar una tinción de Sellers sobre las muestras mientras se esperan los resultados de la técnica AF. A veces se puede hacer un diagnóstico antes de completar la prueba AF. Nosotros, rutinariamente, inoculamos en ratones en todos los casos en que ha habido exposición humana, pero si el AF resulta positivo antes de haber inoculado los ratones, entonces no lo hacemos. En realidad el uso de los ratones ha sido de poco valor para nosotros durante los últimos 3 años y no hemos encontrado casos en que la prueba AF fuera negativa y la inoculación en ratones positiva. La prueba AF depende en gran parte de la habilidad del técnico que la realiza. Nosotros también desmenuzamos glándulas salivales para trabajar con AF. En varios casos en que el tejido animal estaba descompuesto y el material cerebral lisado, hemos podido obtener diagnóstico positivo con el método AF. En otros casos, en los cuales no pudimos encontrar material cerebral para la prueba, hemos usado glándulas salivales con resultados positivos.

DR. SIKES — Es importante que los técnicos mismos evalúen la prueba AF. Deben controlarse por lo menos durante un año antes de abandonar las otras pruebas.

DR. BAER — En México, durante un año hemos observado una correlación muy estrecha entre las pruebas de inoculación en ratones e inmunofluorescencia. Sin embargo, en algunos cerebros de bovinos procedentes de lejos, que llegan en estado de putrefacción, hemos obtenido resultados positivos por inoculación en ratones pero no hemos observado fluorescencia. Quisiera saber si en otros laboratorios han encontrado también la misma cosa. Con respecto a los vampiros, hemos visto una correlación bastante estrecha entre fluorescencia e inoculación en ratones. Quizás el Dr. Morilla podría comentar más acerca de esto.

DR. MORILLA — De 49 vampiros capturados en una cueva de Palo Bolero, encontramos 2 animales positivos a rabia por fluorescencia, Sellers e inoculación en ratones. En una experiencia que se está llevando a cabo se han inoculado 33 vampiros; 8 de ellos han muerto inoculados por vía intracerebral, y en todos se ha observado una correlación muy estrecha entre la inoculación en ratones y la prueba de fluorescencia.

DR. VILCHES — En respuesta a lo solicitado por el Dr. Baer voy a comentar nuestra muy limitada experiencia. Hasta ahora nosotros hemos trabajado exclusivamente con perros. En el curso de los últimos 5 meses hemos recibido 160 perros; 46 de ellos fueron positivos por inmunofluorescencia y también 46 positivos por inoculación en ratones.

DR. FERNANDES — Trabajando con Biechert, en Canadá, sobre la extracción de la cápsula de la partícula rábica con antisuero, nosotros obtuvimos también aglutinación de la partícula vírica. Fue interesante puesto que no estábamos trabajando con virus purificado.

DR. KAPLAN — En esta reunión se han señalado las fallas de la técnica AF. Yo creo que vale la pena repetir que la técnica debe ser probada por lo menos un año antes de abandonar los otros métodos. Si Uds. preparan su propio conjugado, éste debe ser probado en alguno de los centros de referencia para la rabia. Es mucho mejor comprar un buen conjugado estándar, bien probado. En los laboratorios de Europa y Africa hemos encontrado que a menudo llega un conjugado, se lo usa durante un par de semanas y luego, por varias razones, no se lo emplea más, generalmente porque la lámpara del microscopio de fluorescencia se quema. Aprendamos a reemplazarlas y tengamos lámparas extra a mano.

DR. SIKES — Los reactivos pueden ser adquiridos en los laboratorios comerciales de los Estados Unidos por 18 dólares los 5 ml. Esta cantidad puede ser diluida a 1:30, y solamente se emplea alrededor de 0,01-0,5 ml. para cada prueba. Deben también usar una buena cepa virulenta, con un título de por lo menos 5-5,5 logs, para obtener inhibición completa.

DR. HABEL — Quisiera hacer una pregunta. Si un animal muere de rabia y tiene un alto nivel de anticuerpos en el suero, ¿interfiere esto con la prueba AF? Porque se maceran los tejidos para liberar virus y pueden también liberarse anticuerpos.

DR. SIKES — Nosotros hemos tenido, en los Estados Unidos, 2 muertes humanas en los últimos 5 años, en individuos que habían recibido suero y vacuna, y tuvimos problemas con la prueba AF. Pudimos aislar virus del cerebro en ambos casos. Esta es una de las raras ocasiones en que no encontramos correlación entre la inoculación en ratones y la inmunofluorescencia.

DR. STEELE — Dr. Sikes, ¿quisiera Ud. comentar la situación en que un veterinario diagnostica rabia clínicamente y luego el laboratorio pasa resultados negativos?

DR. SIKES — El diagnóstico clínico de la rabia es empírico y hay otras enfermedades que se le parecen: moquillo, hepatitis, leptospirosis o condiciones tóxicas. Por consiguiente, al diagnóstico clínico no se le puede dar precedencia sobre el diagnóstico de laboratorio. En nuestras estadísticas, no contamos los casos con diagnóstico solamente clínico.

En Georgia, muchos casos diagnosticados como positivos clínicamente se encontraron negativos en el laboratorio. Unos 30 de esos casos fueron investigados para listeriosis, encontrándose 12 positivos. Y clínicamente se había diagnosticado rabia.

DR. HABEL — El uso mundial de la técnica AF depende del hecho de que el virus CVS tenga los mismos antígenos que se encuentran en todas partes. La evidencia parece indicar que la prueba trabaja bien, lo cual probaría que las cepas rábicas son iguales antigénicamente.

DR. LARGHI — Dr. Sikes, ¿querría comentar algo más sobre la sustancia inhibidora de la rabia?

DR. SIKES — Yo creo que se ha exagerado el efecto de esta sustancia. Trabajando con zorros y zorrinos, inoculados con una dosis conocida de virus y que morían con síntomas clínicos de rabia, encontramos 3 animales positivos a la prueba AF y negativos a la inoculación en ratones. Repetimos las pruebas con tejido original y obtuvimos los mismos resultados. Extrajimos sangre de 2 de esos animales y encontramos que tenían anticuerpos neutralizantes, de manera que efectuamos una prueba de cerebroneutralización, usando el cerebro como si fuera suero. Estos cerebros protegieron a los ratones hasta una dilución de 1:60. Yo creo que en estos casos los anticuerpos neutralizantes del suero interfirieron con el aislamiento del virus. Nosotros inventamos el término "sustancia inhibidora de la rabia" para este fenómeno.

DR. PARKER — La sustancia inhibidora de la rabia es un problema potencial pero no frecuente. Puede causar una disminución en el título del virus, pero generalmente hemos podido aislarlo a pesar de su presencia. Parece que esta sustancia inhibidora se desarrolla tarde en las infecciones rábicas.

DR. SIKES — La cuestión es: si un animal ha sido vacunado contra la rabia y luego muere de encefalitis, ¿hay posibilidades de confundir el diagnóstico? La prueba AF es específica para el antígeno rábico y si el animal muere de moquillo o alguna otra enfermedad los resultados serán negativos.

DR. VILCHIS — Si un animal inmunizado con vacuna antirrábica efectiva muere de una encefalitis no rábica, ¿hay posibilidades de que la inmunofluorescencia dé resultados positivos por el antecedente de respuesta inmunitaria?

DR. SIKES — Lo mismo se preguntó hace alrededor de 5 años con respecto a la vacuna LEP, y en ese momento nosotros inoculamos hamsters con esta vacuna y los sacrificamos periódicamente durante las primeras dos semanas. No obtuvimos ningún resultado AF positivo. Si un perro no desarrolla rabia a partir de la vacuna, la prueba AF será negativa. Ocasionalmente encontramos cachorros o gatos vacunados con LEP que desarrollaron rabia clínica y murieron; esos animales sí fueron AF positivos.

DR. ROSALES — La discusión está muy interesante y posiblemente la experiencia que voy a relatar pueda ser de interés para

otras delegaciones. En el año próximo pasado se realizó, en el Centro de Investigaciones Veterinarias de Maracay, un curso de inmunofluorescencia, con personal de este Centro y del CDC de Estados Unidos. De este curso nacieron 7 laboratorios que vienen trabajando con el diagnóstico de rabia por inmunofluorescencia; yo tengo datos de las actuaciones que han cumplido 4 de estos laboratorios en el interior del país. En 6 meses se han recibido 873 muestras sospechosas de rabia; 771 muestras fueron sometidas a Sellers en forma directa resultando 130 positivas y 518 negativas. O sea un porcentaje de positividad del 19,6. Del número total de muestras negativas a Sellers, 473 fueron sometidas a inmunofluorescencia, resultando positivas 246. Esta positividad alcanza al 52,0% y habría sido más alta si también las muestras positivas a Sellers hubieran sido probadas por inmunofluorescencia. Esta alta positividad la hemos notado nosotros después de programas de vacunación con vacuna Flury de bajo pasaje (LEP), de tal manera que nosotros sospechamos se nos esté sumando una serie de diagnósticos de rabia por virus vacunal y no por virus de calle. Quisiera pedir a los expertos nos informen si es posible que estos diagnósticos sean verdaderamente de virus vacunal y no de calle.

DR. SIKES — Es importante saber si los animales que uno está examinando con la técnica AF han muerto o fueron sacrificados. El hecho de que el animal haya muerto y sea positivo a AF indica, para mí, que el virus rábico mató al animal. La cuestión de si fue virus calle o virus vacunal es debatible. El cerebro puede ser examinado para observar el tipo de negrigénesis, y la titulación del virus en ratones dará evidencia circunstancial de si el virus aislado es calle o vacunal. El virus de vacuna produce pocos corpúsculos de Negri y da un punto final en ratones en alrededor de 10 días, mientras que el virus calle generalmente no da un punto final hasta los 20-25 días. Sin embargo, probablemente nadie pueda decir con certeza si fue el virus de calle o el vacunal que mató a un animal.

DR. CARDENAS — Es muy frecuente en nuestros programas, en México, observar que después de la vacunación realizada en una ciudad también aumenta el número de casos positivos a rabia que se presentan; también aumenta el número de personas que acuden a solicitar tratamiento o que reportan haber sido mordidas. Nosotros siempre hemos pensado que esta situación es consecuencia de la misma labor educativa; la gente conoce más el problema, se interesa más, y se preocupan por acudir a los servicios para notificar mordeduras o para llevar animales que han mordido a alguna persona.

LA RESPUESTA DE CELULAS "IN VITRO" A LA INFECCION CON VIRUS RABICO

MARIO V. FERNANDES *

Se han publicado informes contradictorios en relación con la naturaleza de los corpúsculos de Negri (Wolman y Behar, Moulton, Sourander, Sokolov y Vanag, Lépine y Atanasiu, etc.). Recientemente se completaron algunos estudios cuyo objeto fue determinar la naturaleza de las inclusiones obtenidas en células *in vitro* después de la inoculación con virus rábico fijo y virus calle (Love y col.).

Las observaciones sobre la formación de inclusiones de tamaños diferentes que no estaban relacionadas con los títulos del virus (Fernandes y col.) reforzaron la hipótesis de que las inclusiones *in vitro* no representan sitios de acumulación de virus sino, posiblemente, alguna forma de reacción celular de defensa. Los estudios de microscopía electrónica realizados por Hottle y col., Matsumoto, Atanasiu y col., y Pinteric, aunque no revelan un cuadro preciso en lo que se refiere a la formación de corpúsculos de Negri o inclusiones *in vitro*, sugieren también las mismas conclusiones.

En este trabajo presentamos algunos datos relacionados con la naturaleza de los corpúsculos de inclusión en células de cultivo de tejido infectadas con virus rábico fijo.

Materiales y métodos

Virus: En esta experiencia se utilizó el virus estándar de confrontación (CVS) y las cepas Pitman-Moore de virus rábico fijo.

Cultivo de tejido: Se emplearon líneas celulares derivadas de una variedad de fuentes animales. Estas incluyeron: cultivos de células endoteliales de conejo (RE), una línea estable de la clona 13 de fibroblastos de riñón de hamster recién nacido (BHK-21), una cepa de célula humana diploidea (WI-38), células RE infectadas con virus rábico (RE-CVS), y un sistema portador de virus de rabia en células BHK-21 (C13-CVS). Las células fueron propagadas en monocapa en botellas de dilución y subcultivadas dos veces por semana. El medio nutritivo consistió en medio básico de Eagle modificado en solución salina balanceada de Earle, con suplemento de 10% de suero de ternero inactivado conteniendo 25 ml. de bicarbonato de sodio 5,6% y 50 g de aureomicina por litro.

Para las observaciones citológicas se permitió que las células se adhieran a cubreobjetos colocados en cajas de Petri de 50 mm. y se incubaron a 37°C en atmósfera de CO₂.

* Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Río de Janeiro, Brasil.

Suero antirrábico: El suero antirrábico fue obtenido de un burro previamente inmunizado con vacuna fenolada proporcionada gentilmente por el Dr. R.K. Sikes del Laboratorio de Investigaciones sobre Rabia, Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, Atlanta, Georgia, Estados Unidos.

Titulación de virus en cultivo de tejido por coloración de anticuerpos fluorescentes (AF):

Se prepararon diluciones décuples del virus en cultivo nutritivo, y 1 ml. de cada dilución fue sembrado en cajas de Petri conteniendo laminillas de células BHK-21. Estas laminillas fueron incubadas a 37°C durante 6 días y coloreadas. La dilución más alta de virus a la cual las células se colorearon con anticuerpos fluorescentes fue la que se consideró como punto final de la titulación.

DL₅₀ en ratones: Para la titulación, ratones blancos suizos de 3-5 semanas de edad fueron inoculados, por vía intracerebral, con 0,03 ml. de la dilución décuple del virus. Los puntos finales se calcularon de acuerdo al método de Reed y Muench.

Observaciones con microscopio de contraste de fases: Las preparaciones en laminillas fueron colocadas en cajas cerradas con medio nutritivo fresco y sometidas a observación a través de un sistema óptico de contraste de fases.

Coloración de May-Grünwald-Giemsa: Las laminillas fueron lavadas dos veces en solución tampón fosfatada (PBS), fijadas en líquido de Bouin durante 10 minutos, luego teñidas con May-Grünwald durante 15 minutos y 30 minutos con solución Giemsa diluida a 1:30 en agua destilada tamponada (pH 6,8). Antes de montarlas, las laminillas fueron sometidas a inmersión en acetona, acetona-xilol y xilol.

Coloración con anticuerpos fluorescentes: Las células sobre las laminillas fueron coloreadas directamente con conjugado de globulina antirrábica obtenida a través del Dr. R.K. Sikes, utilizando la técnica de Coons y Kaplan, modificada por Goldwasser y col.

Irradiación por rayos X: Las cajas plásticas de Petri y botellas de dilución conteniendo los distintos sistemas celulares fueron sometidas a irradiaciones de entre 20 y 120 rad para los experimentos de largo plazo, y de 1000 a 3000 rad para las experiencias de corto plazo. Las muestras fueron colocadas bajo una fuente de irradiación de una unidad de rayos X tipo Keleket (200 Kv y 20 mA). No se utilizó filtro y la distancia varió entre 30 y 68 cm. Se utilizó un dosímetro Victoreen Radocon.

Resultados

Experiencias con células BHK-21: Después de una exposición a virus estándar de confrontación (CVS), a una multiplicidad preliminar de aproximadamente cinco, y después de coloración con AF

las células BHK-21 mostraron presencia de pequeños gránulos de antígeno viral, dispersos a través del citoplasma (Fernandes y col.). El porcentaje de células con fluorescencia subió del 1% observado al tercer día de incubación, a 15% el séptimo día. El título infectante del virus aumentó gradualmente, alcanzando valores de $10^{4.6}DL_{50}$ para el sobrenadante y $10^{7.3}DL_{50}$ para el virus intracelular, en el séptimo día de incubación. Durante transferencias subsiguientes, la proporción de células que mostraron fluorescencia llegó al 100% y los pequeños gránulos mencionados más arriba aumentaron en tamaño, convirtiéndose en inclusiones de tamaño mediano y grande, mientras que la concentración de virus infectante disminuyó (Gráfico I) a $10^{-3}DL_{50}$ para el virus extracelular y $10^{-3.2}DL_{50}$ para el intracelular en el séptimo subcultivo. Como ya se ha mencionado para las células RE y WI-38 (Fernandes y col., Wiktor y col.) en todas las fases del proceso mitótico se encontraron células BHK-21 que mostraban la presencia de pequeños gránulos fluorescentes o inclusiones pequeñas. Por el contrario nunca se observaron células con inclusiones citoplásmicas grandes en el proceso de división. Conforme aumentaba la proporción de células con inclusiones grandes, se hizo evidente un efecto citopatogénico progresivamente más pronunciado, lo cual imposibilitó el continuar los subcultivos. Por esa razón, al nivel del séptimo subcultivo fue necesario añadir a las células infectadas aún viables, otras no infectadas para poder continuar la serie de subcultivos, como puede observarse en el Gráfico I. Una vez, mezcladas las células (en proporción de una célula infectada por 9 no infectadas) aparecieron gránulos fluorescentes e inclusiones pequeñas; al mismo tiempo, la concentración de virus infectante aumentó hasta $10^{6.7}DL_{50}$ para el virus intracelular en lo que se refiere al noveno subcultivo. En el décimo subcultivo fue notable el aumento de células con grandes inclusiones y nuevamente el efecto citopatogénico se hizo progresivamente más evidente. Llegando al subcultivo doce, el virus intracelular llegó a un $10^{3.3}DL_{50}$ y otra vez fue necesario mezclar las células viables infectadas con células no infectadas para continuar la serie de subcultivos. Como puede observarse en el Gráfico I, se repitió este "ciclo" una vez más; en el subcultivo 21 fue necesario nuevamente mezclar células no infectadas con las infectadas. El virus intracelular tenía un título infectante de sólo $10^{-2}DL_{50}$. Las observaciones al microscopio después de nuevos subcultivos, pusieron en evidencia gránulos fluorescentes y pequeñas inclusiones en una gran parte de la población celular; al llegar al subcultivo 25 el virus infectante intracelular había alcanzado un título de $10^{-4}DL_{50}$. Las inclusiones intracitoplásmicas aumentaron progresivamente de tamaño, llegando a ser "medianas" en el subcultivo 28, pero no se desarrollaron más. Por esta razón, no fue posible observar un nuevo aumento en el efecto citopatogénico y no ha sido necesario hasta ahora seguir añadiendo células no infectadas para continuar la serie de subcultivos (subcultivo N° 223, aproximadamente 2 años y medio desde la siembra del virus).

Alrededor del subcultivo 58, el virus perdió por completo su patogenicidad para el ratón. El título de virus intracelular en ese momento se estableció a 10^{-4} dosis infectantes para cultivo de tejido (DICT) en células BHK-21, calculado según la técnica AF, cuya descripción aparece en Materiales y Métodos. La infectividad del virus intracelular para todos los sistemas celulares sometidos a prueba, comienza a disminuir al llegar al subcultivo 180. Aunque los aspectos morfológicos y el tipo de fluorescencia de las inclusiones no cambió, el virus intracelular perdió por completo su infectividad para las células de cultivo de tejido al llegar al subcultivo N° 200.

Como se muestra en el Gráfico I, el porcentaje de células mostrando fluorescencia durante esta serie varió de un subcultivo a otro, aún más allá del punto en el cual pudo observarse una "estandarización" del tamaño de las inclusiones intracitoplásmicas y ausencia consiguiente del efecto citopatogénico. Esta fluctuación en la incidencia de células con inclusiones (determinadas a través de coloración con AF y May-Grünwald-Giemsa) de un subcultivo a otro y una incidencia máxima siempre por debajo del 100% sugieren que, en esta etapa, el sistema C13-CVS existe más bien en un estado portador que en un estado endosimbiótico (Fernandes y col.).

Considerando que las células BHK-21 son capaces de propagarse en cultivos de suspensión, pudimos probar el efecto de una suspensión y agitación continua de células en frascos Spinner, sobre la difusión de infección y sobre la formación y tamaño de las inclusiones en relación con el título del virus. Esas condiciones no alteraron el curso de la infección ni la relación entre tamaño de las inclusiones, efecto citopatogénico y título del virus.

Se llevó a cabo una experiencia (resumida en el Cuadro I), para determinar si la diferencia en tamaño de las inclusiones intracitoplásmicas en células BHK-21 y RE se debía a alguna "modificación precoz" del virus o si representaba diferencias de la célula huésped. El resultado de ésta y otras experiencias similares, sugieren que la formación de inclusiones intracitoplásmicas gigantes, que eventualmente provocan lisis de la célula (o lo que llamamos efecto citopatogénico geográfico), está relacionada con características de las células huéspedes y no con propiedades del virus adquiridas por pasaje *in vitro*.

Tratamiento de cultivos C13-CVS con suero antirrábico: De acuerdo con trabajos anteriores con otros virus mantenidos *in vitro* en estados similares de portadores (Hare y col., Henle y col., Walker y Hinzl), y contrariamente a lo que hemos observado con el sistema endosimbiótico (Fernandes y col.), los cultivos C13-CVS pueden ser "curados" de infección viral y "limpiados" de inclusiones intracitoplásmicas por medio de un tratamiento continuo y prolongado con suero antirrábico inactivado durante 30 minutos a 56°C e incorporado a una concentración de 20% en el medio de cultivo de tejido. La "cura"

de los cultivos C13-CVS bajo estas condiciones se logró después de 4 subcultivos en presencia de suero antirrábico, 27 días después de la iniciación de la experiencia.

Experimentos de irradiación con rayos X: Se realizaron las siguientes experiencias con el objeto de evaluar el efecto de variaciones en las dosis de irradiación con rayos X sobre la susceptibilidad al virus rábico de células *in vitro*, sobre la formación y tipo de inclusiones intracitoplásmicas obtenidas después de la siembra con virus rábico, sobre el sistema portador de virus (C13-CVS) y sobre el sistema endosimbiótico (RE-CVS).

Irradiación de cultivos antes de la siembra de virus: Células BHK-21, RE y WI-38 fueron sometidas a irradiación utilizando 1500 y 3000 rad según la técnica descrita en Materiales y Métodos. Nueve días después de la irradiación, cuando la población se componía en su mayoría de células gigantes, los cultivos irradiados fueron sembrados con virus estándar de confrontación. Los resultados de esta experiencia, en lo que se refiere a los títulos de virus infectante y al tamaño de las inclusiones, están resumidos en el Cuadro II. No se encontraron diferencias entre los cultivos irradiados y los controles en lo que se refiere a la titulación en ratones y en cultivo de tejido. No obstante se encontraron inclusiones grandes en células RE y WI-38 irradiadas.

Irradiación de los cultivos portadores de virus (C13-CVS): Cultivos C13-CVS, después del subcultivo 157, fueron irradiados con 1500 y 3000 rad. Tanto los cultivos irradiados como los no irradiados fueron sometidos a un examen diario, con el objeto de descubrir posibles cambios en el aspecto y tamaño de las inclusiones. El virus intracelular fue titulado el tercero y noveno días después de la irradiación. El Cuadro III resume los datos obtenidos. No se encontraron diferencias notables en los títulos del virus obtenidos en los cultivos irradiados y en los controles, pero el tamaño de las inclusiones aumentó progresivamente, hasta adquirir tamaño grande al séptimo día. El hecho de que durante el día 9^o se observó efecto citopatogénico en los cultivos irradiados sugiere que los títulos de virus obtenidos, bajos en comparación con los de los cultivos no irradiados, se debían a la pobre condición general de las células huésped.

Considerando que la dosis de rayos X empleada dañó tanto a las células, se aplicó una serie de irradiaciones con dosis bajas. Estas dosis no bloquean completamente la capacidad mitótica de las células y, por consiguiente, permiten el subcultivo de las células y la repetición de la irradiación. Cultivos de C13-CVS, al llegar al pasaje 157,

fueron sometidos a irradiación con 20, 50 y 120 rad. Se hicieron entonces los subcultivos, se irradió nuevamente y, dos días más tarde, se examinó el tipo de inclusiones existentes y se tituló el virus. Estos datos se presentan en el Cuadro IV. Conforme aumentaba el tamaño de las inclusiones, se notó lisis en las células que las contenían. Como la población total de células no disminuyó, podemos asumir que las células no infectadas progresivamente "adoptan" al cultivo. Llegando al sexto cultivo de la serie irradiada con 50 rad, y después del quinto subcultivo de la serie irradiada con 120 rad, no se pudieron observar células fluorescentes. Ambas series han sido subcultivadas varias veces más, y no se ha podido demostrar la presencia de un antígeno fluorescente. Estos cultivos fueron sometidos a pruebas para determinar características del fenómeno de interferencia, utilizando virus PM. No se encontraron diferencias al comparar los títulos de virus infectante y la presencia de antígeno fluorescente en estas células y en cultivos de BHK-21.

Irradiación del sistema endosimbiótico (RE-CVS): Se llevaron a cabo dos tipos de experiencias. Una a largo plazo, irradiando con dosis bajas de rayos X (20, 50, 120 rad), durante la cual las células fueron subcultivadas cada vez que fue necesario, y cada subcultivo sometido a irradiación. Se llevó a cabo otro experimento de corto plazo, en el cual los cultivos fueron expuestos a 1000, 1500 y 3000 rad. Los resultados se presentan en los Gráficos II, III, IV y V.

Como puede observarse en forma esquemática en el Gráfico II, después de una irradiación con 1000, 1500 y 3000 rad, el tamaño de las inclusiones intracitoplásmicas aumentó progresivamente. Al séptimo día, las inclusiones eran muy grandes y al 12º día casi llenaban por completo el citoplasma de las células que estaban todavía adheridas. Las características de estas inclusiones de tamaño mediano y grande son bastante parecidas a las descritas anteriormente en el caso del sistema C13-CVS (masas eosinofílicas uniformes por coloración May-Grünwald-Giemsa y presentando una fluorescencia difusa, circundada por una estructura brillante de tipo membrana, con el método AF). Al quinto día pudo observarse lisis de las células. En los cultivos irradiados con 3000 rad se notó efecto citopatogénico completo (++++) durante el día 14º. Al mismo tiempo, en los cultivos irradiados con 1000 y 1500 rad se observó efecto citopatogénico casi completo (+++). Los controles de cultivos irradiados pero no infectados, mostraron un pequeño número de células en lisis. Las alteraciones observadas en estos últimos, 14 días después de la irradiación, estaban en su mayor parte relacionadas con la inhibición de mitosis, formación de células gigantes y lobulación de los núcleos. Durante

este período, los cultivos RE-CVS sin irradiar no mostraron cambio alguno, las inclusiones fueron de tamaño pequeño y los cultivos presentaron todas las características previamente descritas (Fernandes y colaboradores).

Los resultados que se resumen en el Gráfico III demostraron que el título de virus obtenido en extractos de células de estos cultivos disminuye al aumentar el tamaño de las inclusiones. Estos resultados pueden compararse con los presentados en el Gráfico I, hasta el pasaje 25 del sistema portador C13-CVS.

Cultivos del sistema endosimbótico RE-CVS que habían sido subcultivados 51 veces, fueron irradiados con 20, 50 y 120 rad. Fue posible obtener varios subcultivos con esta célula, como se indica en el Gráfico IV. Se observó aumento de tamaño de las inclusiones, y luego presencia de efecto citopatogénico en esta serie de subcultivos, aunque la aparición de masas intracitoplásmicas grandes fue observada más tarde en la serie irradiada con 20 rad. Como se presenta en el Gráfico V, el título del virus recuperado de extractos celulares de estos cultivos disminuyó progresivamente, en la misma forma que en las experiencias anteriores.

En contraste con lo que se observó en las experiencias de irradiación de largo plazo, realizadas sobre un sistema portador, no fue posible detectar células sobrevivientes en el sistema endosimbótico. Probablemente esto se debe a que todas las células del sistema endosimbótico están infectadas y el desarrollo y acumulación de grandes inclusiones en el citoplasma luego de la irradiación provoca eventualmente su lisis.

Conclusiones

Los resultados de estas experiencias concuerdan con los estudios citotóxicos de Love y col., en lo que se refiere a la naturaleza de los corpúsculos de inclusión en células de cultivo de tejido infectadas con virus rábico fijo. La estrecha correlación entre el tamaño y número de las inclusiones con los títulos del virus recuperado de los extractos celulares de los cultivos correspondientes indican, aparentemente, que las inclusiones producidas *in vitro* luego de infección con virus rábico, no representan sitios de acumulación de virus, sino, posiblemente, alguna forma de reacción celular de defensa. Esta reacción celular al virus, o a algún factor o factores, inducida en el citoplasma de las células infectadas, varía de acuerdo con el sistema celular huésped sometido a prueba. Las células RE "reaccionan" desarrollando inclusiones pequeñas y las células BHK-21 por elaboración y acumulación de masas muy grandes que, en algunos casos, llenan completamente el citoplasma, provocando la lisis de la célula.

Se encontró que la irradiación por rayos X provoca cambios en el tamaño de las inclusiones obtenidas en las células RE y, en consecuencia, rompe el equilibrio presente en el sistema endosimbótico (RE-CVS) sin determinar un aumento en la cantidad de virus infectante producido por esas células. Estas experiencias sugieren que la irradiación por rayos X es capaz de provocar alteraciones en el tipo de "reacción" observada en las células RE bajo condiciones normales, facilitando así a estas células la capacidad de producir inclusiones grandes con las mismas características de las obtenidas en los cultivos BHK-21.

Además, bajo las condiciones experimentales ya detalladas, nos parece que ha sido demostrado inequívocamente que el mecanismo del efecto citopático del virus rábico en cultivo de tejido está relacionado con el tamaño de las inclusiones que se forman dentro del citoplasma de las células infectadas. Si el tamaño de estas inclusiones no aumenta hasta el punto de llenar casi por completo el citoplasma de las células (no dejando lugar para sus funciones normales) éstas no demuestran ningún cambio aparente, ya sea morfológico o funcional, fuera de la presencia de inclusiones intracitoplásmicas.

CUADRO I

Tamaño de las inclusiones en células RE y BHK-21 a los 7 días después de la inoculación con extractos celulares de cultivos de C₁₃-CVS, RE-CVS y "Pool" CVS

FUENTE DE VIRUS	Células	Tamaño de las inclusiones
Extracto celular de C ₁₃ -CVS (12° subcultivo)	RE	Pequeñas
	BHK-21	Grandes
Extracto celular de RE-CVS (6° subcultivo)	RE	Pequeñas
	BHK-21	Grandes
"Pool" CVS	RE	Pequeñas
	BHK-21	Grandes

CUADRO II

Irradiación de cultivos BHK-21 y RE antes de inoculación del virus

Virus	Células	Dosis de irradiación (Roentgens)	CULTIVOS IRRADIADOS			CULTIVOS DE CONTROL		
			Tamaño de inclusiones	Título del virus		Título del virus		Tamaño de inclusiones
				DL ₅₀	AF	DL ₅₀	AF	
CVS "pool" del 26-III	BHK-21 (clona 13)	1.500 rad	grande	10 ^{-4,1}	10 ⁻⁵	10 ^{-4,7}	10 ⁻⁵	grande
		3.000 rad	grande	10 ^{-3,9}	10 ⁻⁵			
	RE	1.500 rad	grande	10 ^{-3,2}	10 ⁻³	10 ^{-3,2}	10 ⁻³	pequeño
		3.000 rad	grande	10 ^{-2,6}	10 ⁻³			

CUADRO III

Irradiación (grandes dosis) con rayos X de los cultivos portadores de virus (C 13 - CVS)

Dosis (Roentgens)	DIAS DESPUES DE LA IRRADIACION			
	3		9	
	Título (AF)	Tamaño de inclusiones	Título (AF)	Tamaño de inclusiones
1.500 rad	10 ⁻⁴	mediano	10 ⁻³	grande
3.000 rad	10 ⁻⁴	mediano	10 ⁻³	grande
Control (no irradiado)	10 ⁻⁴	mediano	10 ⁻⁴	mediano

CUADRO IV

Irradiación (dosis pequeñas) de los cultivos portadores de virus (C 13 - CVS)

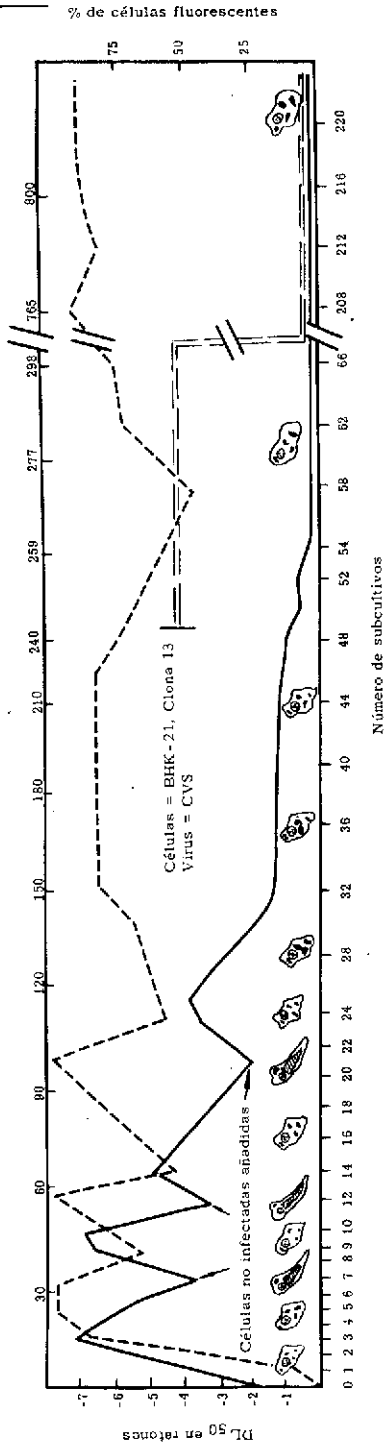
Dosis de irradiación *	NUMERO DE SUBCULTIVOS HECHOS DESPUES DE LA IRRADIACION INICIAL					
	1	2	3	4	5	6
20r	Porcentaje de células mostranda fluorescencia Titulo (+) Tamaño de las inclusiones 70 10-4 Med.	Porcentaje de células mostranda fluorescencia Titulo (+) Tamaño de las inclusiones 70 10-4 Med.	Porcentaje de células mostranda fluorescencia Titulo (+) Tamaño de las inclusiones 60 10-3 Med.	Porcentaje de células mostranda fluorescencia Titulo (+) Tamaño de las inclusiones 60 10-3 Med.	Porcentaje de células mostranda fluorescencia Titulo (+) Tamaño de las inclusiones 75 10-4 Med.	Porcentaje de células mostranda fluorescencia Titulo (+) Tamaño de las inclusiones 70 10-4 Med.
50r	70 10-4 Med.	50 10-4 Med.	23 10-2 Gr.	7 10-1 Gr.	1 0 Gr.	0 0 0
120r	70 10-4 Med.	60 10-4 Med.	10 10-1 Gr.	5 0 Gr.	0 0 0	0 0 0
No irradiad.	70 10-4 Med.	75 10-4 Med.	60 10-4 Med.	75 10-4 Med.	75 10-4 Med.	70 10-4 Med.
					Suspendida por contaminación	

(+) Dosis infectante cultivo de tejido, en células BHK-21.

* Cultivos irradiados en cada subcultivo.

Gráfico I

Días después de la inoculación inicial



— Título de virus (DL₅₀ en ratones)
 - - - DICT (AF)
 · · · Porcentaje de células fluorescentes

Gráfico II

IRRADIACION CON RAYOS X DE CULTIVOS RE-CVS (SISTEMA ENDOSIMBIOTICO)

ELABORACION DE INCLUSIONES EN RELACION CON EL TIEMPO TRANSCURRIDO DESPUES DE LA IRRADIACION (AF)

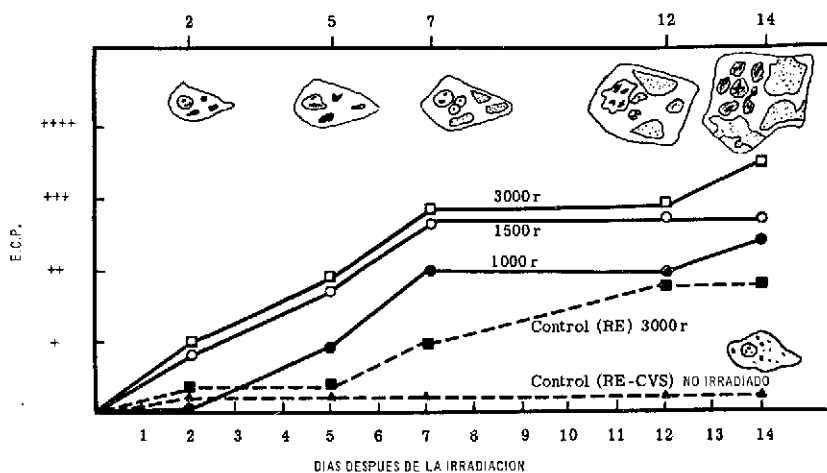


Gráfico III

TITULOS DE VIRUS RECUPERADOS DE CULTIVOS RE-CVS SOMETIDOS A IRRADIACION CON RAYOS X

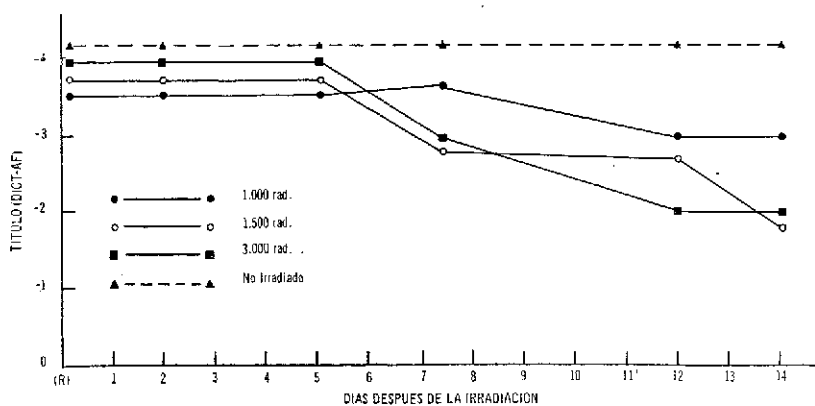


Gráfico IV

SUBCULTIVO DE CULTIVOS RE-CVS SOMETIDOS A DOSIS BAJAS DE IRRADIACION CON RAYOS X

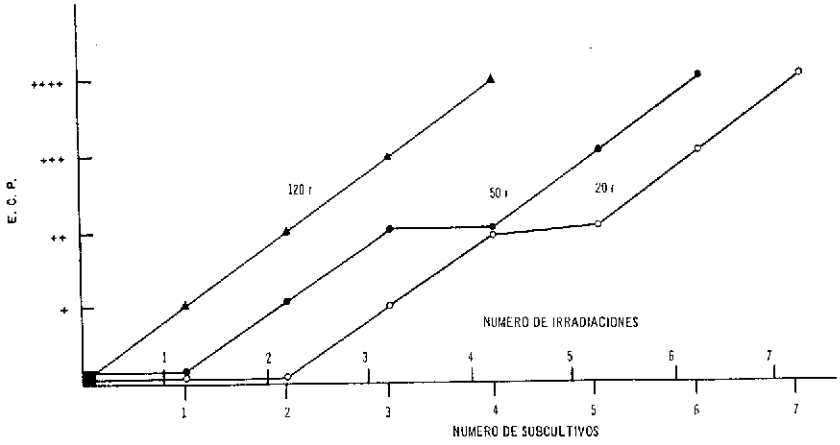
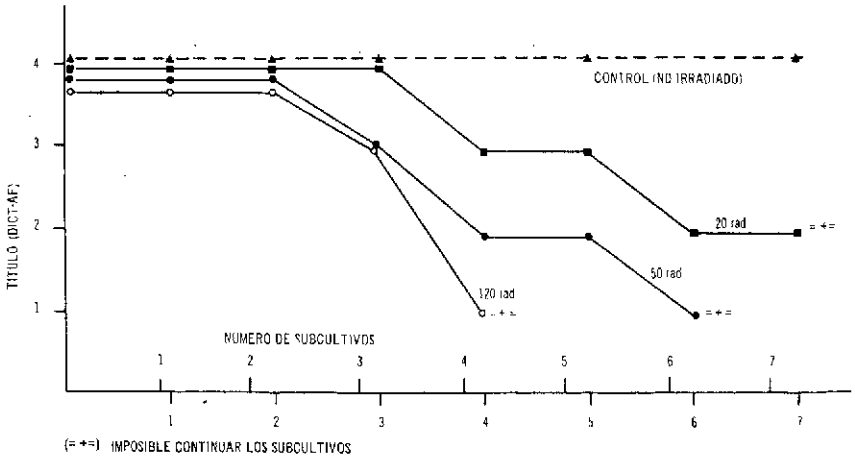


Gráfico V

TITULOS DE VIRUS OBTENIDOS DE CULTIVOS RE-CVS SOMETIDOS A IRRADIACION CON RAYOS X (DOSIS BAJAS)



FIBROBLASTOS DE RINON DE HAMSTER RECIEN NACIDO (BHK₂₁C₁₃) IN-
FECTADOS CON CVS. SISTEMA PORTADOR (C₁₃-CVS)

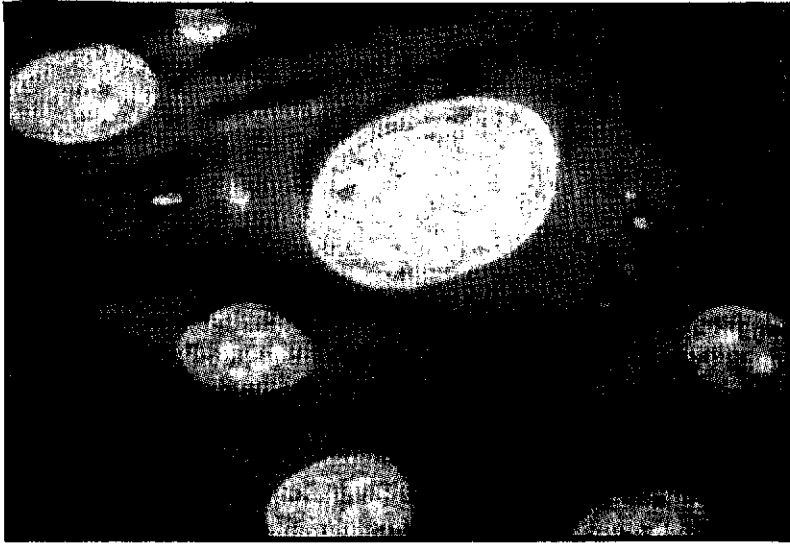


FIG. 1.— Segundo subcultivo de células C₁₃-CVS. Pequeñas inclusiones intracito-
plásmicas. Técnica de tinción con naranja de acridina.

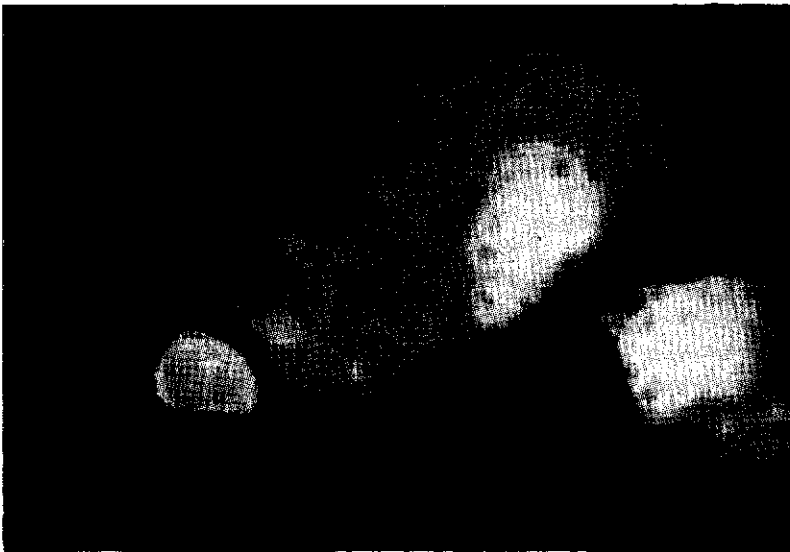


FIG. 2.— Cuarto subcultivo de células C₁₃-CVS. Inclusiones de tamaño mediano
Células en telofase. Técnica de tinción con naranja de acridina.

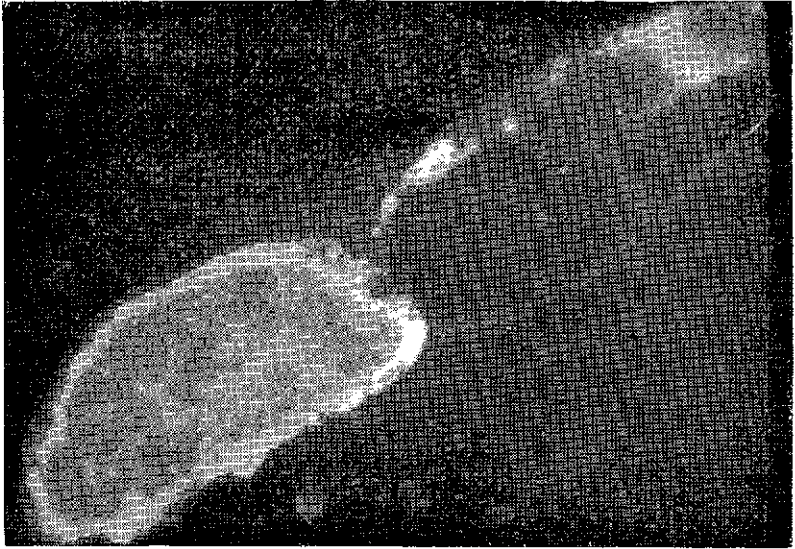


Fig. 3.— Séptimo subcultivo de células C_{13} —CVS. Inclusiones grandes. Técnica de anticuerpos fluorescentes.

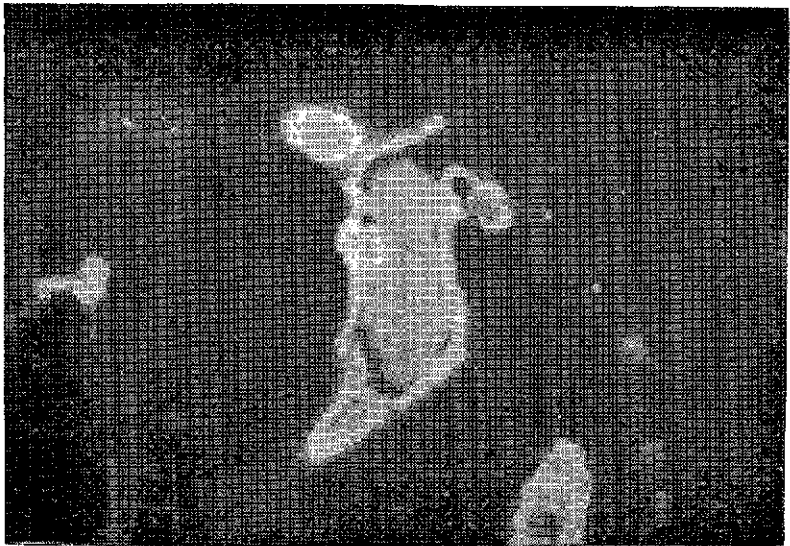


Fig. 4.— Séptimo subcultivo de células C_{13} —CVS. Inclusiones grandes. Note la ruptura de la estructura de tipo membrana que rodea la inclusión. Técnica de inmunofluorescencia.

CELULAS DE ENDOTELIO DE CONEJO (RE) INFECTADAS
CON CVS SISTEMA ENDOSIMBIOTICO (RE-CVS)

Séptimo subcultivo de células RE-CVS. Gránulos de fluorescencia brillante en varias etapas de mitosis. Técnica de anticuerpos fluorescentes.

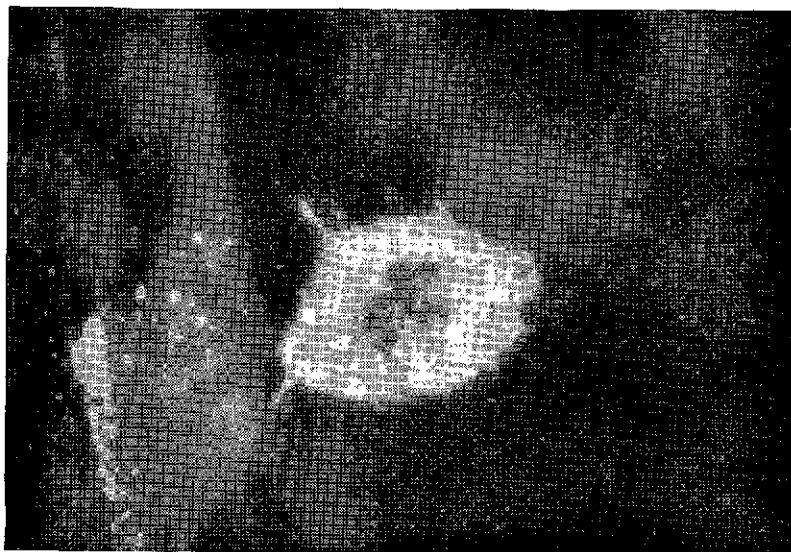


Fig. 5 — Profase



Fig. 6 — Metafase

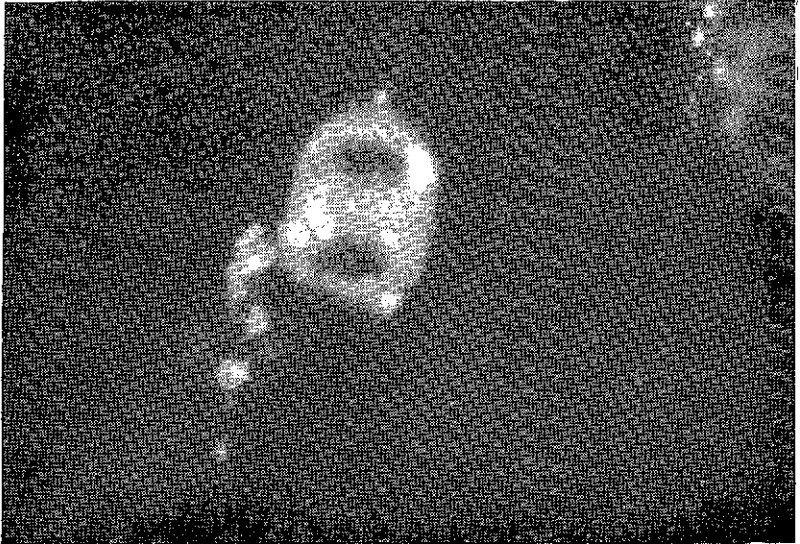


Fig. 7 — Anafase

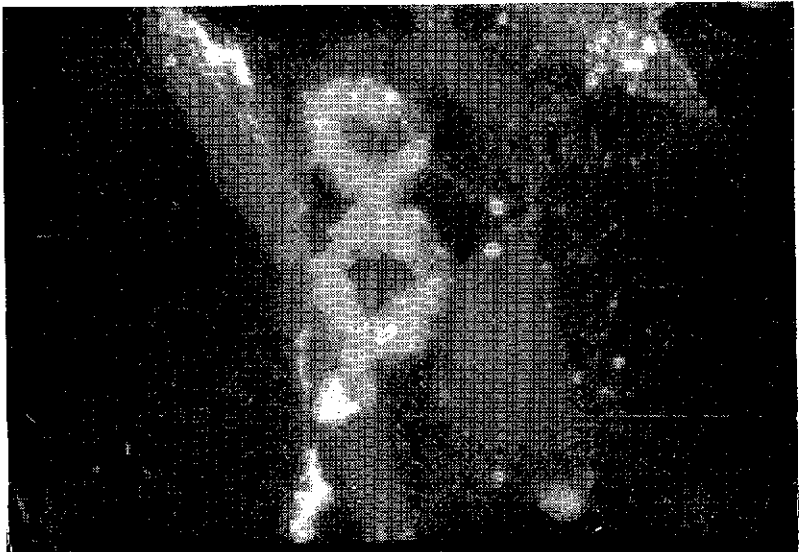


Fig. 8 — Telofase

Fibras musculares *in vitro* (cultivos de embriones de pollo de 14 días) inoculadas con CVS. Gránulos fluorescentes brillantes e inclusiones de tamaño mediano.

Notar que los elementos semejantes a fibroblastos que rodean las fibras musculares no muestran fluorescencia. Técnica de inmunofluorescencia.

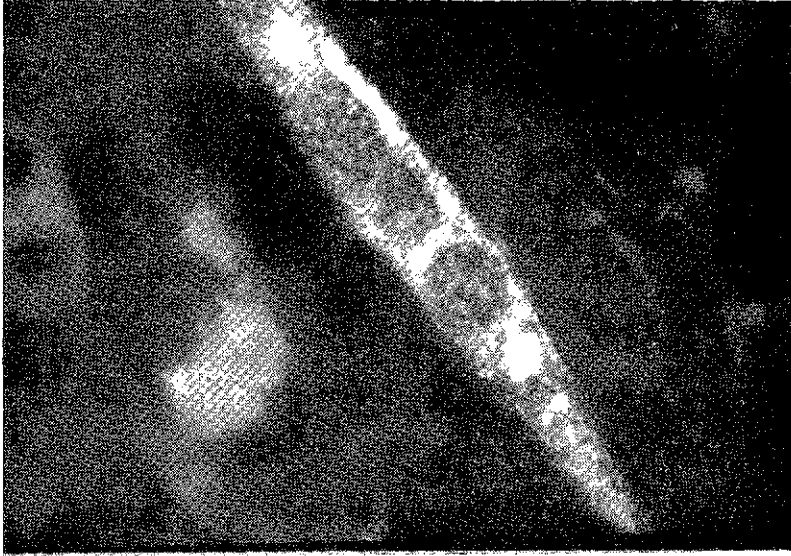


Fig. 9 — cultivo de 14 días - 48 horas después de la inoculación

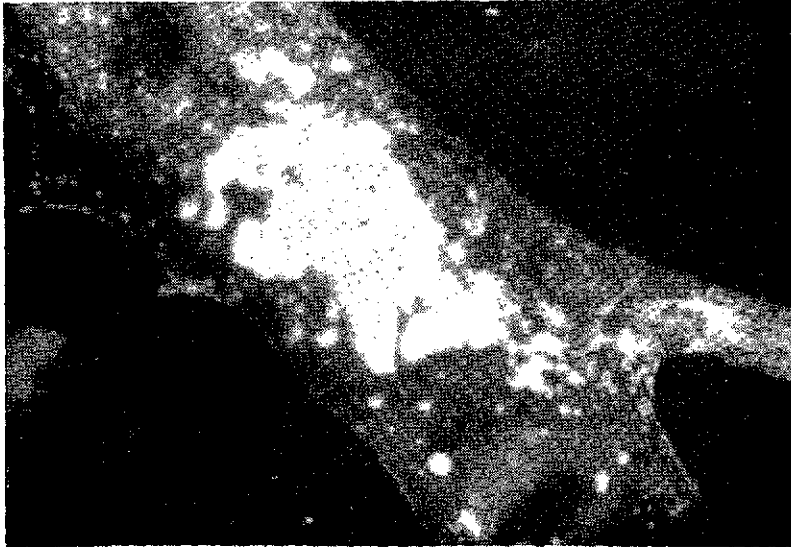


Fig. 10 — cultivo de 18 días - 6 días después de la inoculación

REFERENCIAS

- Allen, R.; Sims, R. A.; Sulkin, S. E. Studies with cultured brown adipose tissue. I. Persistence of rabies virus in bat brown fat. *Amer. J. Hyg.*, 80: 11-24, 1964.
- Atanasiu, P.; Lépine, P.; Dragonas, P. Etude cinétique du virus rabique en culture de tissus à l'aide des anticorps fluorescents et des coupes ultrafines. *Ann. Inst. Pasteur*, 105: 813-824, 1963.
- Eagle, H. The minimum vitamin requirements of the L and HeLa cells in tissue culture; the production of specific vitamin deficiencies and their cure. *J. exp. Med.*, 102: 595, 1955.
- Fernandes, M. V.; Wiktor, T. J.; Koprowski, H. Endosymbiotic relationship between animal viruses and host cells. A study of rabies virus in tissue culture. *J. exp. Med.*, 120: 1099-1116, 1964.
- Fernandes, M. V.; Wiktor, T. J.; Koprowski, H. Mechanism of the cytopathic effect of rabies in tissue culture. *Virology*, 21: 128, 1963.
- Hare, J. D.; Balduzzi, P.; Morgan, N. R. Polyoma virus and L cell relationship. I. Some characteristics of a cell line persistently infected with polyoma virus. *J. Nat. Cancer Inst.*, 30: 45, 1963.
- Hare, J. D.; Morgan, H. R. Polyoma and L cell relationship. II. A curable carrier system not dependent on interferon. *J. Nat. Cancer Inst.*, en prensa.
- Henle, G.; Hinze, H. C.; Henle, W. Persistent infection of L cells with polyoma virus: periodic destruction and repopulation of the cultures. *J. Nat. Cancer Inst.*, 31: 125, 1963.
- Hottle, G. A.; Morgan, C.; Peers, J. H.; Wykoff, R. W. G. The electron microscopy of rabies inclusion (Negri) bodies. *Proc. Soc. exp. Biol.*, (N. Y.), 77: 721-723, 1951.
- Kissling, R. E.; Reese, D. R. Anti-rabies vaccine of tissue culture origin. *J. Immunol.*, 91: 362-368, 1963.
- Lépine, P.; Atanasiu, P. Sur la nature du virus rabique. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 256: 4783-4785, 1963.
- Love, R.; Fernandes, M. V.; Koprowski, H. Cytochemistry of inclusion bodies in tissue culture cells infected with rabies virus. *Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)*, 116: 560, 1964.
- Love, R.; Fernandes, M. V.; Wiktor, T. J. The nature of inclusion bodies produced by rabies *in vitro* and *in vivo*. International Symposium of rabies, Talloires, 1965, Karger, Basel/New York, 1966.
- Love, R.; Fernandes, M. V.; Wiktor, T. J. The response of cell to infection with rabies. *Trabajo presentado al VIII Congreso Internacional de Patología Comarada*, Beirut, Libano.
- Macpherson, I.; Stoker, M. Polyoma transformation of hamster cell clones - An investigation of genetic factors affecting cell competence. *Virology*, 16: 147, 1962.
- Matsumoto, S. Electron microscope studies of rabies virus on mouse brain. *J. Cell Biol.*, 19: 565-591, 1963.
- Moulton, J. E. A histochemical study of the Negri bodies of rabies. *J. Path.*, 30: 533-543, 1954.
- Pomerat, C. M.; Slick, W. C. Isolation and growth of endothelial cells in tissue culture. *Nature*, 198: 859, 1963.
- Reed, L. J.; Muench, H. Simple method of estimating 50 per cent endpoints. *Amer. J. Hyg.*, 27: 495, 1938.

Sokolov, N. N.; Vanag, K. A. The nature of intranuclear inclusions in experimental rabies. *Acta virol.*, 6: 452-457, 1962.

Sourander, P. Cytochemical studies on rabies inclusions (Negri bodies). *J. path. Bact.*, 72: 258-265, 1956.

Walker, D.; Hinze, H. G. A carrier state of mumps virus in human conjunctiva cells. I. General characteristics. *J. exp. Med.*, 116: 739, 1962.

Wiktor, T. J.; Fernandes, M. V.; Koprowski, H. Cultivation of rabies virus in human diploid cell strain WI-38. *J. Immunol.*, 93: 353, 1964.

Wolman, M.; Behar, A. A cytochemical study of the nature of Negri bodies. *J. infect. Dis.*, 91: 69-71, 1952.

Comentarios

DR. WIKTOR — El sistema endosimbiótico es interesante y la habilidad de infectar células y mantenerlas vivas por largos períodos de tiempo sin ningún cambio detectable puede ser una indicación de lo que sucede en el animal. Luego, si este sistema endosimbiótico es alterado por alguna razón el animal desarrolla rabia. El Dr. Fernandes pudo romper este sistema endosimbiótico por irradiación de las células endoteliales de conejo y modificar el aspecto del desarrollo de los corpúsculos de inclusión. Esta es una de las marcas de alteración en la infección. Sería interesante saber si algún otro aspecto del virus cambió, como por ejemplo la infectividad para otros sistemas de cultivo de tejido.

DR. HABEL — Este sistema endosimbiótico es un fenómeno interesante. Los sistemas portadores *in vitro* han sido conocidos durante años y se ha encontrado que la persistencia de la infección en células es un asunto de balance entre el interferón y la cantidad de virus producido. En la mayoría de los sistemas de cultivo de tejido se ha encontrado que las células individuales producen virus, mueren y luego liberan más virus. El virus liberado es influenciado por la cantidad de interferón presente en el líquido extracelular. Esto explica el caso de las células que soportan una infección indefinidamente sobreviviendo ambos, las células y el virus. Si, por ejemplo, en un sistema de cultivo celular sólo el 5% de las células mueren, esto probablemente no será observado y el virus continuará mantenido por las otras células. Con la rabia puede suceder algo similar a las experiencias con los virus tumorales: las células pueden estar infectadas y permanecer aparentemente normales, produciendo un bajo nivel de replicación de virus.

DR. FUENZALIDA — Yo quisiera poner en discusión un aspecto que no hemos considerado al abordar el tema de caracterización del virus. Me parece conveniente que hoy día, aquí en presencia de varios expertos de la OMS, pudiéramos definir con exactitud lo que es

virus fijo, virus calle, virus modificado. Son conceptos nuevos y hay mucha confusión. Actualmente, en Sudamérica se utilizan diferentes cepas para la elaboración de vacuna. Hay un trabajo del Dr. Habel, hecho en el año 40, en Estados Unidos, en el que pudo evaluar las cepas que se utilizaban en la preparación de vacuna determinando cuáles eran las que tenían mejores condiciones inmunogénicas para este fin. Nosotros, por otra parte, hemos reunido algunas cepas con el objeto de buscar entre ellas las que pudieran prestarse mejor para la confrontación de vacuna y hemos realizado un estudio preliminar que pensamos continuar. Hemos obtenido algunas conclusiones un poco sorprendentes; por ejemplo, uno de los virus que tenemos aquí en el laboratorio, llamado 6818, originado en Venezuela de rabia de un bovino, tuvo desde un comienzo características muy diferentes a las que encontramos en virus calle: un período de incubación que no pasó nunca de 5 días, alta virulencia, negrigénesis muy escasa. Y este es un virus que deberíamos considerarlo como virus calle. Hay otra cepa, también venezolana, la Bolívar, que tiene 1070 pasajes directos en cerebro de bovino, con un título bastante alto; hemos podido observar que al ser inoculada en hamsters después de pasada por cultivo de tejido, éstos eliminan virus por la saliva. Estos son hechos que nos hacen pensar que la definición que tenemos de virus fijo nos puede confundir un poco. ¿Cuáles serían las características que deberíamos considerar para definir exactamente un virus fijo, un virus calle y el virus modificado?

DR. HABEL. — El término virus fijo, que se originó en la época de Pasteur, se refiere al largo del período de incubación al pasar el virus intracerebralmente en conejos, que era lo que se usaba en aquellos días. Un virus calle en sus primeros pasajes después del aislamiento de su huésped natural, tiene un período de incubación relativamente largo que puede variar de una semana a varios meses. Luego de subsiguientes pasajes de cerebro el período de incubación tiende a acortarse y, eventualmente, alcanza un punto en el cual se estabiliza o se fija, no importa cuántas veces más sea pasado. Este es el origen del término "cepa fija" de virus. Con el paso de los años otros criterios han sido incluidos en el término "fijo".

La invasión de las glándulas salivales por el virus rábico es un hecho importante en la transmisión de la rabia en la naturaleza. La aparición de virus en las glándulas salivales es una característica del virus calle y está relacionada con la virulencia relativa del virus. Hay otras características, tales como la producción de corpúsculos de Negri, invasión de las glándulas salivales, período de incubación después de inoculación cerebral, títulos comparables de un virus cuando se lo inocula por vía intracerebral e intramuscular, y otras reacciones en relación a los sistemas de cultivo de tejido, que pueden ser evaluadas.

Es una definición arbitraria decir que una cepa de virus rábico está modificada o atenuada. Debe establecerse que está atenuada o

modificada con respecto a ciertas características. Todos los virus cambian y cada producción de virus por un cerebro o un sistema de cultivo de tejido contiene una variedad de partículas víricas; nosotros asignamos las características generales basándonos en las de la mayoría de partículas presentes. Puede haber otras partículas víricas que no compartan estas características de la mayoría. Nosotros usamos el sistema de placas porque la progenie de un solo virus puede ser más uniforme en sus características; en otras palabras, para disminuir la variabilidad. En la mayoría de los sistemas, especialmente en el animal, debemos tratar con muchas partículas víricas con diferentes cualidades. Por consiguiente, la forma en que se pasa el virus, en qué animales, por qué vía, el sistema de cultivo de tejido y la temperatura, son todos factores que ejercen sobre el virus una presión selectiva dando preferencia a cierto tipo o a ciertas mutantes del virus sobre el resto. Si tales manipulaciones son realizadas durante bastante tiempo, el producto final será un virus con características diferentes a las del comienzo.

En realidad, el usar los términos "fijo", "calle" y "modificado" es una forma muy pobre de definir lo que sucede en un sistema biológico.

DR. PORZECANSKI — Quisiera pedir al Dr. Sikes que diga algo sobre el fenómeno de autoesterilización, pues en realidad muchas veces no sabemos bien qué importancia darle.

DR. SIKES — El fenómeno de sustancia inhibidora de la rabia es un factor real en muy pocos casos. El uso del término "autoesterilización" para definir la situación en que un animal muere con signos clínicos de rabia y no es posible aislar el virus es, según mi opinión, la misma cosa. Autoesterilización significa que hay suficientes anticuerpos presentes en el cerebro como para interferir con el aislamiento del virus. La inmunofluorescencia nos ha permitido demostrar la presencia de infección en muchos de esos casos.

CAPITULO VI

RABIA SELVATICA

R. KEITH SIKES *

La rabia selvática es reconocida como un serio problema en varias partes del mundo. Los chacales son una fuente importante de infección en por lo menos 30 diferentes países, principalmente de Asia y Africa. La rabia de los zorros constituye un problema por lo menos en 14 países, especialmente de América del Norte y Europa. Los lobos son reservorios importantes en 10 países o más, principalmente en la zona oriental del Mediterráneo. La mangosta es un vector importante de la enfermedad en Sud Africa, Nigeria del Norte, Cuba, República Dominicana, Puerto Rico, Granada e India. Los murciélagos son fuente de infección rábica en las Américas: murciélagos insectívoros en América del Norte y murciélagos vampiros en varios países de América latina. En los Estados Unidos, la especie animal que más frecuentemente se encuentra infectada con rabia es la de los zorrinos.

Los animales salvajes son fuente de infección tanto para los animales domésticos como para el hombre, aunque no se conoce exactamente el papel que juegan en la epidemiología de la rabia.

Otros participantes de este Seminario han presentado sus observaciones e hipótesis sobre la ecología de la rabia y de los animales silvestres. Voy a bosquejar ahora el problema de la rabia en la fauna silvestre de los Estados Unidos, describiendo investigaciones recientes con esos animales, y haré una revisión de trabajos anteriores con murciélagos, especialmente vampiros.

La rabia en los animales salvajes de los Estados Unidos

El cambio más significativo en el panorama de la rabia animal en los Estados Unidos ha sido el marcado aumento de la incidencia de la enfermedad en los animales silvestres y su disminución entre los animales domésticos (Gráfico I). Desde 1960 ha habido, anualmente, más casos de rabia en la fauna silvestre que entre los animales domésticos.

En los Estados Unidos, los casos de rabia confirmados por el laboratorio corresponden con mayor frecuencia a infecciones en zorrinos y zorros. El número y la distribución de los casos en esos hués-

* Jefe de la Unidad de Control de la Rabia, Programa de Epidemiología, Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, Departamento de Prevención de Enfermedades y Control Ambiental, Servicio de Salud Pública, Departamento de Salud, Educación y Bienestar Social de los Estados Unidos, Atlanta, Georgia.

pedes selváticos pueden observarse en las Figs. 1, 2 y en el Gráf. 2. La zona más afectada por la rabia de los zorrinos es la parte central del país, especialmente los Estados del medio oeste y del Valle de Ohio. En 1965, 32 Estados notificaron un total de 1.528 casos de rabia en zorrinos, la mayoría en los zorrinos rayados *Mephitis mephitis*. Durante los últimos 13 años se ha notado, en general, un marcado aumento de la incidencia de rabia en zorrinos.

En 1965 hubo 1.038 casos de rabia en zorros. La mayoría de los casos se registraron en la parte este de los Estados Unidos, especialmente en los Estados de los Montes Apalaches, desde Nueva York a Tennessee y en los Estados de la Costa del Golfo. De 1953 a 1966, la incidencia de rabia en zorros permaneció más o menos igual. De 1961 a 1963 se observó una pequeña disminución, pero en los dos años siguientes, la incidencia aumentó hasta alcanzar el mismo nivel que en 1953.

En los Estados Unidos han surgido, en los últimos años, dos nuevas especies importantes como huéspedes silvestres del virus rábico: los murciélagos y los mapaches (Figs. 3 y 4). En 1965 se notificaron más casos de murciélagos rabiosos que en ningún otro año desde 1953, fecha en que se observó por primera vez la rabia en esos animales. Cuarenta y dos Estados informaron rabia en murciélagos, constituyéndose en el tipo de rabia animal más ampliamente distribuido en los Estados Unidos en 1965. La rabia en mapaches continúa siendo un problema local de la parte sudeste del país. La epizootia, que comenzó en el sur de Florida, ha venido moviéndose hacia el norte a un promedio anual de alrededor de 50 millas, durante varios años. El Gráf. 3 ilustra la incidencia de rabia en esa especie.

Investigaciones recientes sobre rabia selvática

Durante los últimos 8 años, se han realizado un número considerable de investigaciones sobre la rabia selvática. Voy a resumir las características principales de los trabajos efectuados, dividiéndolos en dos grupos: 1) Relación entre la susceptibilidad del huésped y la cantidad de virus eliminado en la saliva, y 2) Substancia inhibidora de la rabia (SIR).

1. — Relaciones entre la susceptibilidad del huésped y la cantidad de virus eliminado en la saliva.

Cuatro especies huéspedes —zorros, zorrinos rayados, mapaches (*Procyon* spp.) y comadreja (familia Didelphidae)— originarias de la mayoría de los países de América, fueron estudiadas bajo condi-

ciones controladas para determinar su susceptibilidad a la infección y la cantidad de virus que contenía la saliva de cada una, así como el período de tiempo durante el cual hospedaban el virus¹⁻². El Cuadro 1 resume ambos estudios. Los animales fueron inoculados intramuscularmente con virus rábico aislado de las glándulas salivales de un zorro. Los zorros resultaron ser la especie más susceptible y las comadrejas la más resistente. El período medio de incubación fue inversamente proporcional a la dosis de virus inoculado en cada grupo.

CUADRO 1

Cálculo de las dosis de una cepa de virus rábico calle necesarias para matar el 50 % de varias especies de animales salvajes inoculados periféricamente

	Zorros	Zorrinos	Mapaches	Comadrejas
Número de DL ₅₀	< 5	500	1000	> 80.000

La relación entre la cantidad de virus presente en la saliva de los animales infectados y la dosis infectante puede observarse en el Cuadro 2. Es digno de atención especial el contraste existente entre la conducta de zorros y zorrinos. Aunque fue mayor el número de zorros que murieron de rabia, un porcentaje mucho más alto de zorrinos tenía virus en su saliva. También fue mayor el porcentaje de zorrinos que eliminaron altas concentraciones de virus: en la saliva del 73% de los zorrinos había 10³ o más DL₅₀ para los ratones, mientras que sólo el 20% de los zorros eliminaron tanta cantidad. Así mismo, hay un contraste bien definido entre los zorros y los zorrinos con respecto a la relación entre la dosis infectante y la presencia de virus en la saliva. Al inocularse a los zorros grandes cantidades de virus, la saliva de sólo 1 entre 6 (16%) contenía virus, mientras que 8 de 11 (73%) zorros inoculados con una pequeña dosis eliminaban saliva infectada. Con los zorrinos no se observó este fenómeno, siempre que se les administrara una cantidad de virus suficiente como para infectarlos, todos lo eliminaban en la saliva.

CUADRO II

Datos sobre demostración de virus rábico en la saliva de animales silvestres infectados experimentalmente por vía intramuscular

Animales	Zorros	Zorrinos	Mapaches	Comadrejas
Nº con virus en la saliva Nº de muertos por rabia	10/24 (41%)	15/18 (83%)	7/11 (63%)	0
Por lo menos 1000 DLM ₅₀ Virus en la saliva Nº con virus en la saliva	2/10 (20%)	11/15 (73%)	2/7 (28%)	0
Nº con virus en la saliva Nº de muertos por >10.000 DLM ₅₀ de virus de confrontación.	1/6 (16%)	11/13 (84%)	3/5 (60%)	0
Nº con virus en la saliva Nº de muertos por <1000 DLM ₅₀ de virus de confrontación.	8/11 (73%)	0	1/2 (50%)	—

Estos datos tienen una significación epidemiológica que ayuda a explicar la presente distribución geográfica de la enfermedad en los Estados Unidos.

2. — Substancia inhibidora de la rabia (SIR)

El fenómeno SIR fue observado por primera vez en 1959, en dos zorros y un zorrino infectados experimentalmente con virus rábico³. Esos tres animales desarrollaron rabia clínica. Impresiones de tres glándulas salivales y un cerebro fueron positivas a la prueba de anticuerpos fluorescentes (AF), aunque las suspensiones de esos tejidos fallaron en matar los ratones en la prueba de inoculación. Se repitieron las pruebas obteniéndose resultados idénticos. Esas suspensiones fueron entonces mezcladas con virus rábico vivo fijo para una prueba de neutralización de tejido. La mezcla resultante no solamente no mató a los ratones sino que los protegió. De manera que la prueba AF resultó más sensible con esas muestras que la prueba de inoculación en ratones. Otros investigadores han obtenido resultados similares con tejidos de zorros y zorrinos, hallando que 53 de 103 especímenes contenían SIR⁴.

También se ha demostrado, en ratones infectados experimentalmente, una estrecha correlación entre los anticuerpos SN y la neutralización de tejido⁵.

Una investigación reciente ha permitido comprobar que la SIR se desarrolla tarde en el curso de la rabia clínica en zorrinos infectados en el laboratorio. Se encontraron anticuerpos SN en todos los zorrinos con SIR⁶.

La SIR ha sido detectada en varias otras especies animales, incluyendo mapaches, murciélagos y perros. La principal contribución de estos estudios ha sido el hallazgo de que la inmunofluorescencia demuestra la presencia de antígeno rábico cuando otras pruebas fallan. Cuando los primeros investigadores se vieron incapaces de detectar el antígeno rábico en animales infectados, lo consideraron un fenómeno de autoesterilización. La SIR puede o no tener significación epidemiológica pero su presencia crea un problema diagnóstico.

Rabia en murciélagos

Es interesante hacer una revisión de la rabia en esos animales silvestres, ya que los murciélagos están entre las más recientemente reconocidas víctimas y portadores de la enfermedad.

1. — Murciélagos vampiros.

Los murciélagos *Desmodus* no fueron considerados como los vectores de la rabia hasta varios años después de que la "enfermedad paralítica" de los bovinos fuera reconocida. De hecho la enfermedad, que existía en Brasil desde 1908, no fue identificada hasta 1911, cuando Carini⁷ observó la presencia de corpúsculos de Negri y diagnosticó que la enfermedad de los bovinos del sur de Brasil llamada "mal de caderas" era en realidad rabia. Notó Carini que la rabia canina era comparativamente rara en las áreas afectadas, y sugirió que la enfermedad debía ser transmitida por algún animal salvaje. El brote continuó extendiéndose hasta que en 1920 abarcaba Paraguay, Argentina y Brasil. Solamente los bovinos y los equinos eran afectados. No había ningún caso humano y los casos en perros eran muy raros.

Entre 1921 y 1931, hubo otros investigadores que confirmaron el diagnóstico de Carini. Se hicieron interesantes observaciones en las zonas afectadas. Se notó desproporción entre los pocos casos de rabia canina y la gran mortalidad entre el ganado. Las pérdidas eran mayores en la vecindad de las selvas, y los ríos no constituían una barrera para la diseminación de la infección. Los murciélagos que se veían volando en los alrededores durante el día, gritando y peleándose, fueron considerados sus vectores. La opinión final de Haupt y Rehaag⁸ fue que tal "agresividad anormal debía seguramente ser considerada como signo de enfermedad".

En 1934, Lima⁹ demostró que *Desmodus rotundus*, inoculados artificialmente con virus rábico aislado de bovinos, podían infectar a otro murciélago mordiénolo, y que este último a su vez podía transmitir la enfermedad al ganado durante un periodo de 1 a 5 meses. Según él, el murciélago infectado capaz de transmitir la enfermedad, puede parecer sano.

Hurst y Pawan¹⁰⁻¹¹ describieron un brote de mielitis aguda ascendente causada por rabia, que afectó en Trinidad a 17 personas y 450 animales entre 1925 y 1931. Los murciélagos vampiros fueron considerados los vectores.

Dado que se han hecho tantas generalizaciones sobre los vam-

piros como portadores de rabia en base a los trabajos de Pawan^{12,13}, he revisado cuidadosamente sus publicaciones, en especial sus estudios controlados de laboratorio con *Desmodus*. La mayoría de sus observaciones son muy similares a las realizadas por nosotros con casi todos los mamíferos terrestres. Pawan afirma:

- "1) Los murciélagos vampiros son susceptibles a la inoculación artificial con virus rábico.
- "2) La enfermedad puede ser de tipo furioso o paralítico, o puede no presentar síntomas clínicos.
- "3) Los murciélagos vampiros, capturados en la naturaleza, pueden mostrarse indebidamente excitados y "furiosos", o pueden parecer sanos sin evidencia de enfermedad. En ambos casos, sin embargo, pueden estar infectados con rabia.
- "4) Los murciélagos vampiros con síntomas de rabia furiosa o con cualquier evidencia de la enfermedad a consecuencia de infección natural o experimental, pueden transmitir la rabia a otros animales al morderlos.
- "5) Los murciélagos vampiros *pueden* convertirse en portadores de la rabia después de "haberse recuperado" de la forma furiosa de la enfermedad. En este estado *pueden* permanecer capaces de diseminar la infección por sus mordeduras durante periodos prolongados". (El subrayado es mío, con el objeto de enfatizar que Pawan no afirma que los vampiros sean portadores, sino que introduce la hipótesis de que pueden llegar a serlo).

Los informes de Pawan se refieren a sus observaciones con cientos de vampiros, la mayoría de los cuales desarrollaron rabia y murieron, o no desarrollaron la enfermedad en absoluto. Informa sobre 3 vampiros que desarrollaron rabia clínica y se curaron. En uno de ellos no se hizo intento alguno de aislar el virus ni de transmitir la rabia a otros animales. Otro, transmitió la rabia a una cabra cuando estaba en el período furioso; no se trató de aislar el virus del murciélago ni se intentó de que transmitiera la enfermedad después de haberse recuperado. El tercero, tuvo rabia furiosa clínica durante 4 días. En el quinto día mordió a un ternero, que luego murió de rabia. Pero otro ternero, mordido 6 días más tarde, es decir, después de la total recuperación del murciélago, no mostró signos de que le hubiera sido transmitida la enfermedad; no hubo posteriores aislamientos del virus.

En base a las publicaciones de Pawan, es cuestionable la tesis de que los vampiros sean "portadores" de rabia, si por "portadores" entendemos animales que transmiten la infección sin mostrar ellos mismos síntomas de enfermedad.

No hay ninguna duda de que Pawan observó murciélagos con rabia, que transmitieron el virus y luego se curaron. Observó también en los vampiros largos periodos de incubación de hasta 157 días.

2. — Murciélagos frugívoros e insectívoros.

En 1914 se notificó, en Brasil, la transmisión de la rabia a un ternero por un murciélago *Phyllostoma superciliatum*. Sin embargo, no se hizo intento alguno de aislar virus del cerebro del murciélago. En 1916, se indujo experimentalmente rabia paralítica en un conejo y un cobayo, inoculándolos con una emulsión de médula de un murciélago *P. superciliatum* que había mordido a una vaca. Rehaag⁸ observó corpúsculos de Negri en secciones del conejo y del cobayo.

Pawan¹⁴ condujo experimentos de exposición y transmisión experimental de la rabia con murciélagos frugívoros *Artibeus*. Logró infectar algunos de los murciélagos con virus rábico aislado de vampiros y seres humanos. Como ejemplo, voy a relatarles una de esas experiencias. Se infectó un murciélago vampiro con virus de rabia fijo; cinco murciélagos frugívoros fueron colocados en la jaula con el vampiro, quedando allí durante 27 días. El día 27º se mezclaron muestras de saliva de 3 de 5 de los murciélagos frugívoros y con ese material se infectó un conejo por escarificación de la pared abdominal. El conejo murió 3 semanas más tarde con parálisis de los cuartos traseros. Como era de esperarse, ya que se trataba de virus fijo, no se observaron corpúsculos de Negri en el cerebro del conejo. Se inyectó suspensión del cerebro del conejo en el nervio ciático de un cobayo; se hicieron cuatro pasajes adicionales por cobayo, y en el 4º se observaron corpúsculos de Negri. Pawan afirmó que los murciélagos *Artibeus* permanecieron vivos y sanos, sin ningún síntoma de anormalidad, durante 36-95 días. La conclusión fue que el vampiro había transmitido el virus fijo a los murciélagos frugívoros sin mostrar signos de enfermedad clínica y luego este virus fue eliminado en la saliva de los murciélagos frugívoros sin que ellos a su vez mostraran síntomas clínicos de rabia. Lamentablemente, Pawan no establece si el vampiro mostraba o no síntomas clínicos cuando los murciélagos frugívoros fueron puestos con él. Ni tampoco aclara si el vampiro o los murciélagos frugívoros fueron cuarentenados antes de la experiencia, ya que ellos podían haber estado incubando virus rábico de calle. También el hecho de que la única prueba de este trabajo con virus rábico fuera el examen de la presencia de corpúsculos de Negri deja mucho que desear, especialmente debido a que se trabajaba con virus fijo, y los corpúsculos de Negri generalmente no son observados con esa cepa. Después de 4 pasajes en cobayos se observaron corpúsculos de Negri. Finalmente, las muestras de saliva de 3 de los murciélagos frugívoros fueron obtenidas el día 27º, y los signos clínicos pudieron haberse manifestado en algún murciélago alrededor del 36º día; en tal caso, ese animal debería tenerse en cuenta para la transmisión. Pero el autor no da la historia de los murciélagos después de los 36 días. Ninguna aclaración posterior de este trabajo ha sido realizada.

En este mismo Seminario, el Dr. Baer se refiere a los trabajos con murciélagos insectívoros.

Control de la rabia selvática

Los métodos disponibles para el control de la rabia en la fauna silvestre se basan en el principio de reducción selectiva de las poblaciones animales por medio de trampas, veneno, fumigación y caza con armas de fuego. En la mayoría de los casos, estos métodos no han resultado satisfactorios. La caza con trampas es muy costosa, pero quizás es el método de control más selectivo y seguro. El envenenamiento ha probado ser más práctico en el caso de especies vectoras pequeñas (por ejemplo, sulfato de talio contra las mangostas y huevos envenenados con estriquina para los zorrinos). La fumigación es aplicable sobre bases estacionales, durante los períodos en que los grupos familiares de los animales vectores están juntos.

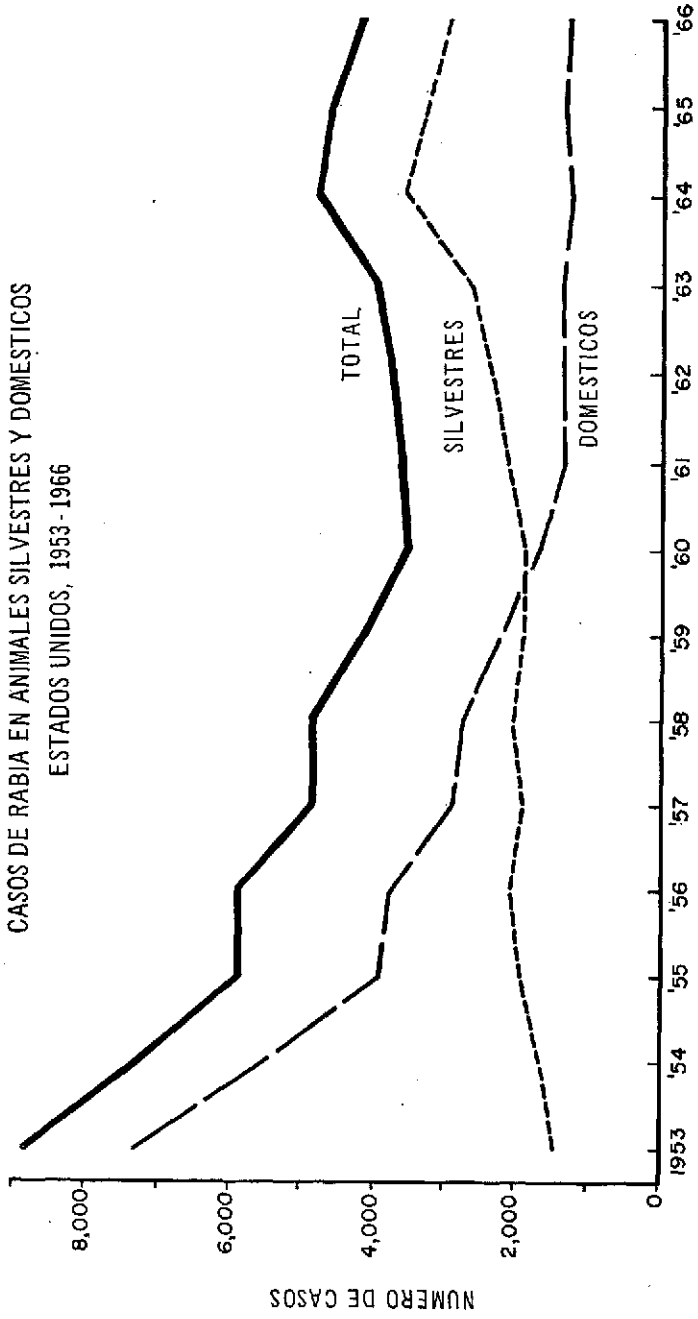
Se está tratando de encontrar una forma práctica de interrumpir el ciclo de reproducción de los carnívoros salvajes como un posible medio de controlar la densidad de sus poblaciones. Hormonas tales como los estrógenos y gonadotropina coriónica están siendo probadas experimentalmente con este propósito. En estudios recientes, hemos descubierto que los zorros pueden ser inmunizados por un año con una sola inyección intramuscular de una vacuna inactivada potente de tejido nervioso. Se está probando, en experiencias de campo, un aparato para la vacunación automática. La inmunización de la fauna salvaje terrestre podría ser un medio de control mucho mejor que la reducción de la población.

El control de la rabia en los murciélagos es aún más difícil que en los otros animales silvestres. La reducción de núcleos importantes de poblaciones de murciélagos es virtualmente imposible. De manera que el método más racional para la protección de los seres humanos de la exposición a murciélagos rabiosos sería la educación. La gente debe estar en guardia contra el peligro de la rabia transmitida por murciélagos y evitar el contacto con esos animales; debe evitarse que los murciélagos entren a las habitaciones por medio de cortinas, etc. Las personas mordidas, en un ataque no provocado, deben recibir tratamiento antirrábico profiláctico. En las zonas donde ocurre la rabia parálitica, el ganado debe ser inmunizado con las mejores vacunas rábicas disponibles.

Conclusión

Como en varias partes del mundo la rabia canina está siendo controlada cada vez más efectivamente, la enfermedad irá tomando mayor importancia entre los animales silvestres como sucedió en los Estados Unidos y Canadá. Es necesario saber más acerca de la historia natural de la rabia en diferentes zonas del mundo, especialmente con respecto a la presencia del estado de portadores entre murciélagos vampiros, mangostas y ciertas otras especies selváticas. Necesitamos también desarrollar y evaluar métodos de control de la enfermedad en los animales salvajes. La investigación es la llave para resolver el problema de la rabia en la fauna silvestre.

Gráfico I
 CASOS DE RABIA EN ANIMALES SILVESTRES Y DOMESTICOS
 ESTADOS UNIDOS, 1953-1966



Fuente: USDA y USDHEW, PHS

Gráfico II

CASOS DE RABIA EN HUESPEDES SELVATICOS TRADICIONALES, ESTADOS UNIDOS.

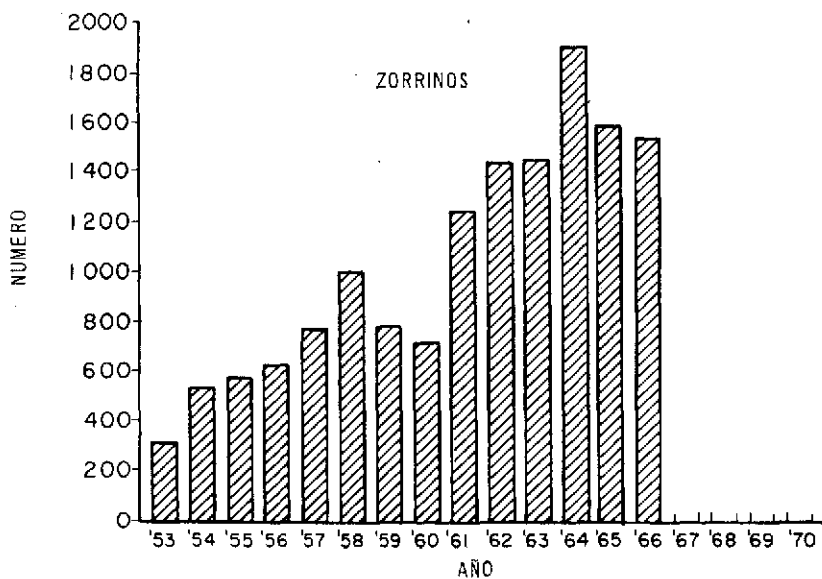
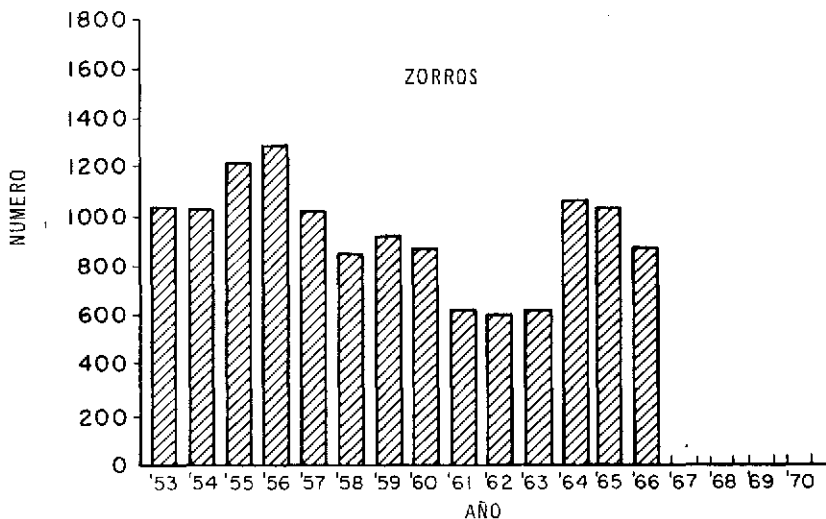


Gráfico III

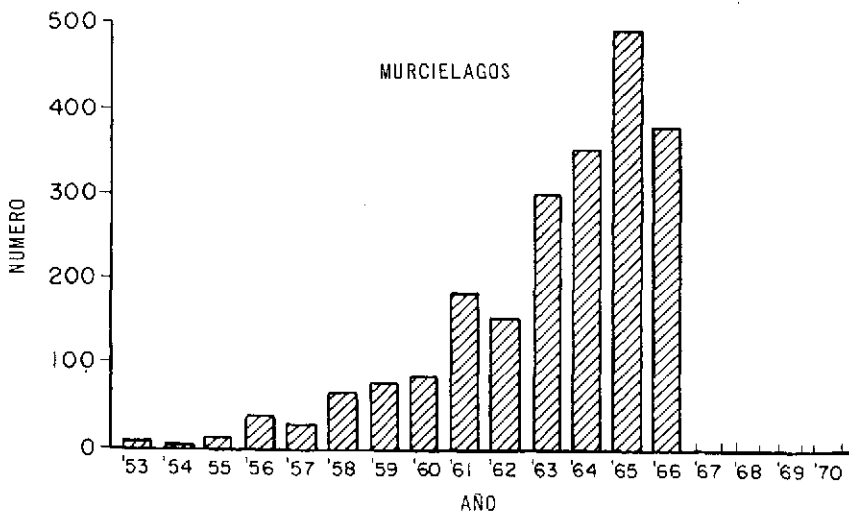
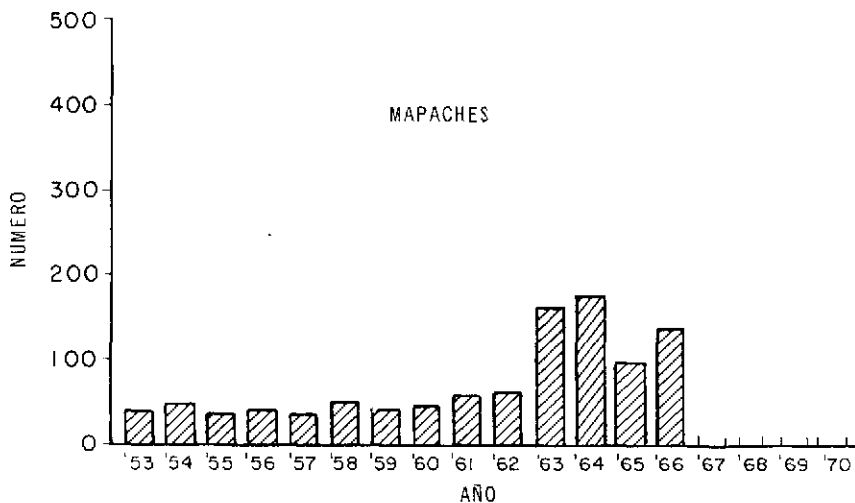
CASOS DE RABIA EN HUESPEDES SELVATICOS DE RECIENTE APARICION
ESTADOS UNIDOS

Figura 1

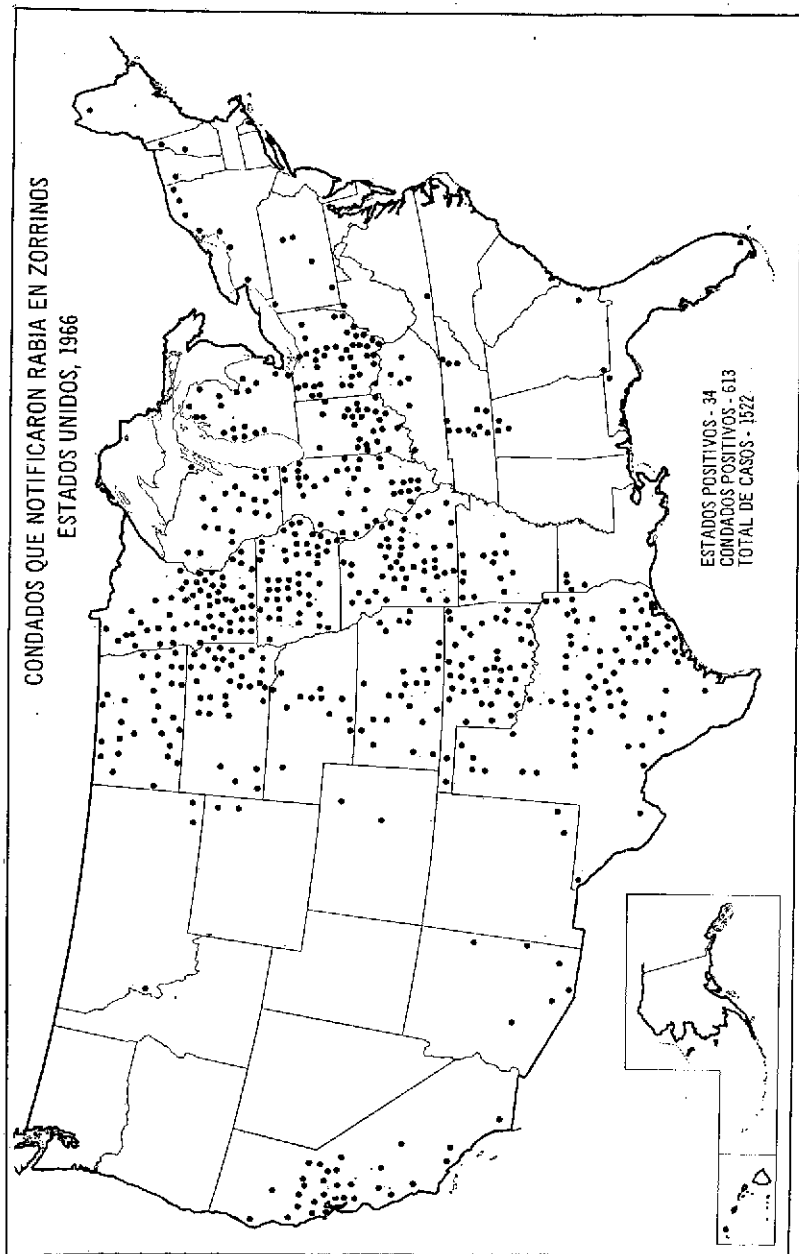


Figura 2

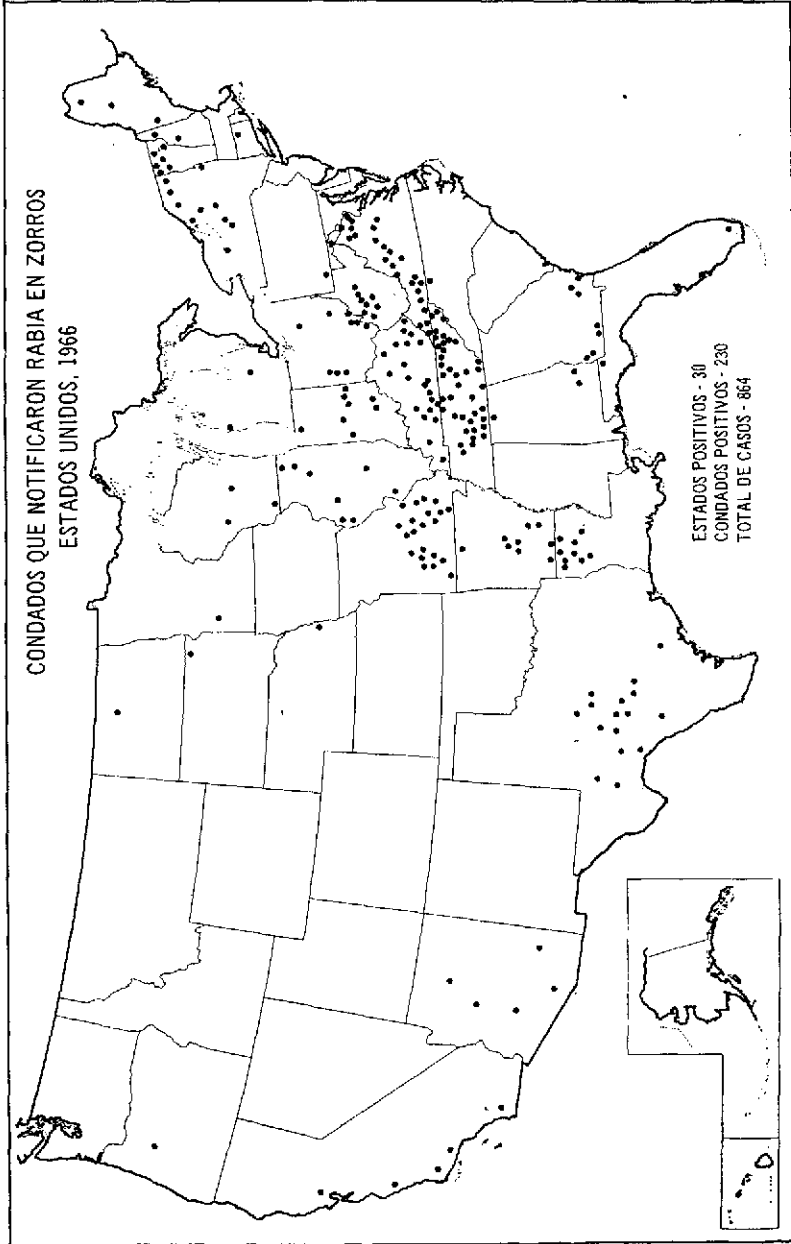


Figura 3

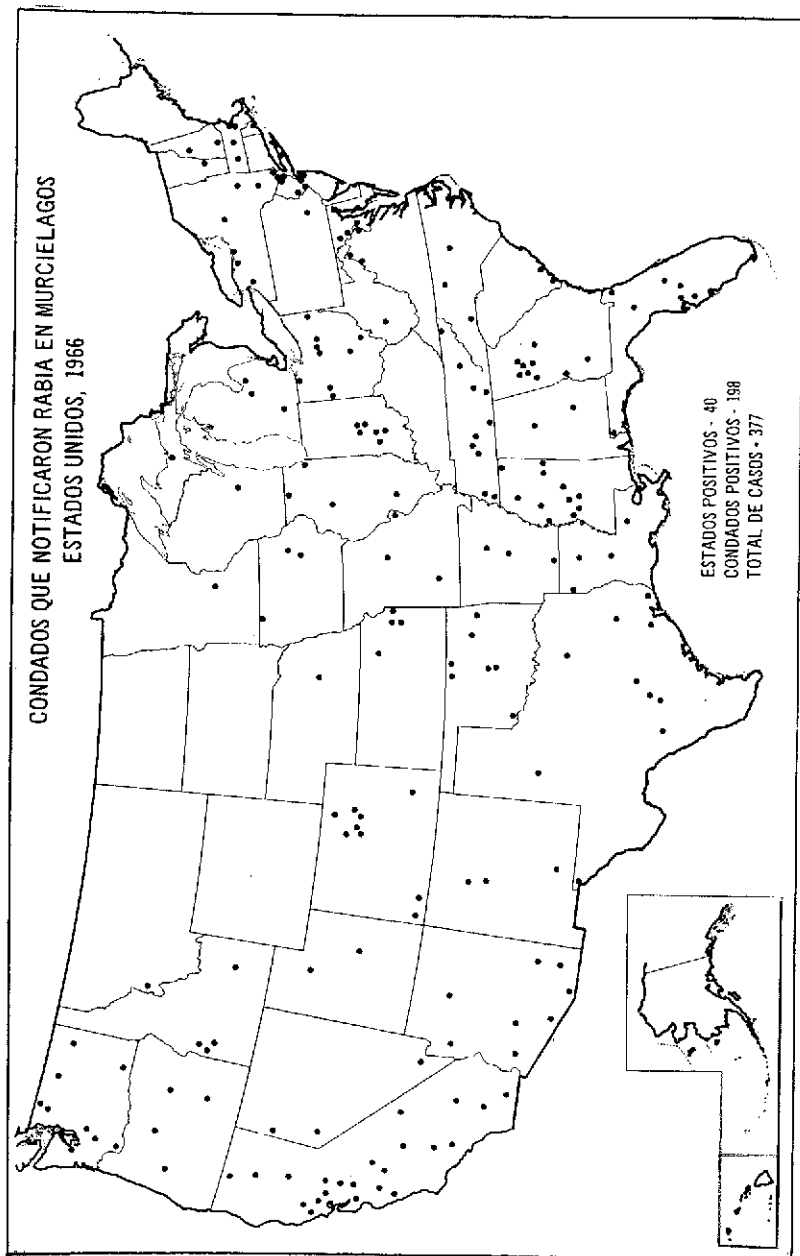
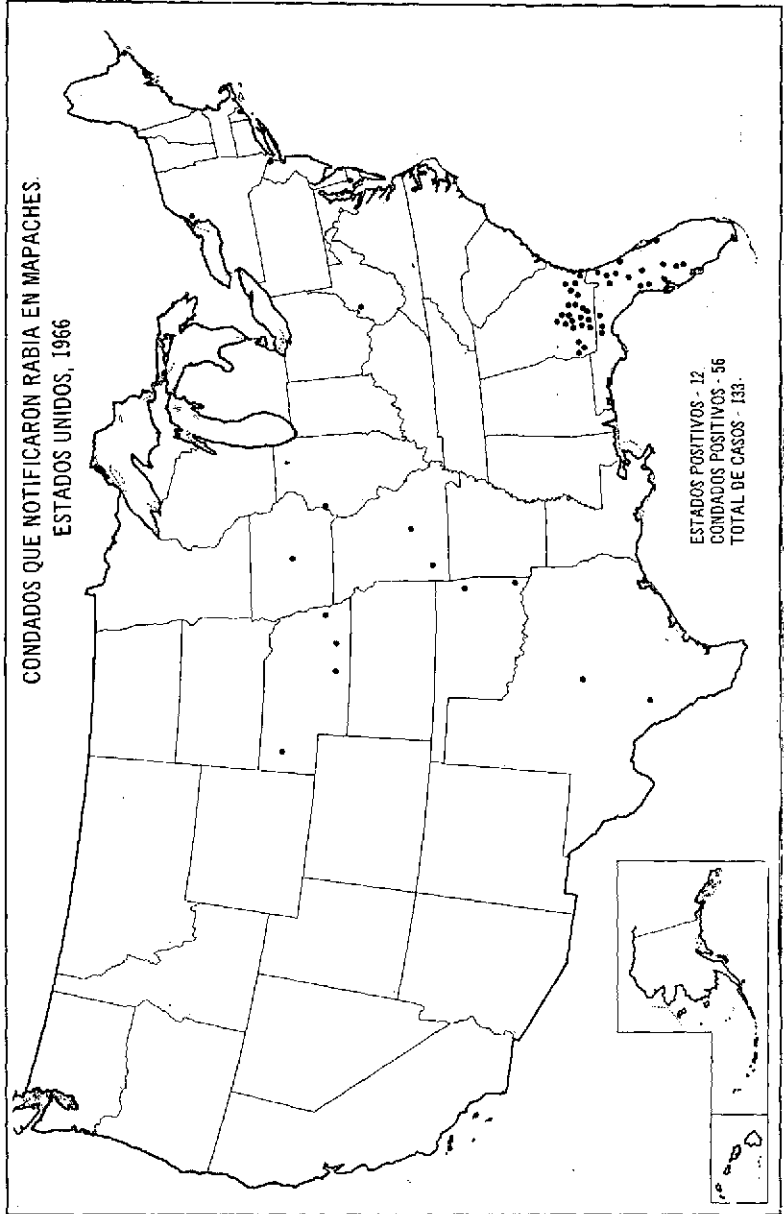


Figura 4



REFERENCIAS

- ¹ Sikes, R. K. Pathogenesis of rabies in wildlife. I. Comparative effect of varying doses of rabies virus inoculated into foxes and skunks. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 1041, 1962.
- ² Sikes, R. K.; Tierkel, E. S. Wildlife rabies studies in the Southeast. *65th Annual Proceedings of the U.S. Livestock Sanitary Association*, Oct. 1960.
- ³ Carski, T. R.; Wilsnack, R. E.; Sikes, R. K. Pathogenesis of rabies in wildlife. II. Fluorescent antibody studies. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 1048, 1962.
- ⁴ Wilsnack, R. E.; Parker, R. L. Pathogenesis of skunk rabies virus. Rabies inhibiting substance as related to rabies diagnosis. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 39, 1966.
- ⁵ Bell, F. J. Abortive rabies infection. I. Experimental production in white mice and general discussion. *J. infect. Dis.*, 114: 249, 1964.
- ⁶ Parker, R. L.; Sikes, R. K. Development of rabies inhibiting substance in skunks infected with rabies virus. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 81: 941, 1966.
- ⁷ Carini, A. Sur une grande epizootie de rage. *Ann. Inst. Pasteur*, 25: 843, 1911.
- ⁸ Haupt, H.; Rehaag, H. Durch Fledermause verbreitete seuchenhafte Tollwut unter Viehbeständen in Santa Catharina (Sud-Brasilien). *Ztschr. f. InfektKr. Haustiere*, 22: 104, 1921.
- ⁹ Lima, E. de Queiroz. A transmissão da raiva bovina pelo morcego hematophaga *Desmodus rotundus*. *Brazil-Med.*, 48, 1934.
- ¹⁰ Hurst, E. W.; Pawan, J. L. An outbreak of rabies in Trinidad without history of bites and with symptoms of acute ascending myelitis. *Lancet*, 221: 622, 1931.
- ¹¹ Hurst, E. W.; Pawan, J. L. A further account of the Trinidad outbreak of acute rabies myelitis: histology of the experimental disease. *J. Path. Bact.*, 35: 301, 1932.
- ¹² Pawan, J. L. The transmission of paralytic rabies in Trinidad by the vampire bat. *Ann. trop. Med.*, 30: 101, 1936.
- ¹³ Pawan, J. L. Rabies in the vampire bat of Trinidad, with special reference to the clinical course and the latency of infection. *Ann. trop. Med.*, 30: 401, 1936.
- ¹⁴ Pawan, J. L. Fruit-eating bats and paralytic rabies in Trinidad. *Ann. trop. Med.*, 42: 173, 1948.
- ¹⁵ Baer, G. M. Trabajo a ser presentado en el I Seminario Internacional de Rabia para las Américas, auspiciado por el Centro Panamericano de Zoonosis, Organización Panamericana de la Salud, Buenos Aires, Argentina, Sept. 1967.

Comentarios

DR. VILCHES — Antes de pasar a la discusión general del tema, sería interesante conocer la opinión de algunas de las personas que han trabajado intensamente en este tipo de problemas. El Dr. Parker, de Canadá, por ejemplo.

DR. PARKER — Nosotros hemos usado un virus de glándula salival de zorrino para un trabajo similar al descrito por el Dr. Sikes, y con hallazgos similares. La diferencia principal fue que nosotros encontramos que los zorritos son muy susceptibles al virus aislado de zorritos. Otra diferencia fue un período de incubación más largo y también un período de enfermedad clínica más largo. Uno de los zorritos eliminó virus en su saliva durante 18 días antes de su muer-

te. Pensamos que podíamos detectar enfermedad clínica alrededor de 10 días antes de la muerte del animal. Pienso que en la mayor parte de los casos de rabia bovina observados en los Estados Unidos la enfermedad es transmitida por mamíferos terrestres.

DR. SIKES — En los Estados Unidos nosotros pensamos que generalmente la rabia de los bovinos es debida a mordeduras de zorros y zorrinos, como dijo el Dr. Parker.

DR. BAER — La rabia en las especies silvestres es un asunto muy interesante y el Dr. Sikes ha hecho una presentación muy completa; quisiera comentar sólo 2 aspectos. Primero, que la situación en las cuevas de la parte sur de Texas es muy particular, única, con poblaciones inmensas de murciélagos de 3.000.000 y a veces hasta 10.000.000 de animales. Eso no se encuentra en otras cuevas ni con otras especies de murciélagos. En la cueva Frío, donde fueron hechos los experimentos que describió el Dr. Sikes, hay mucha humedad y temperatura alta. Todos los murciélagos recién nacidos, digamos un medio millón de murciélagos jóvenes, quedan en un cuarto, el cuarto de crianza; las madres salen a la noche para comer insectos y vuelven a la mañana a dar de comer a los recién nacidos. Debemos recordar siempre que se trata de una situación muy especial.

Con respecto a la vacunación, creo que muchas personas que han trabajado en la epidemiología de la rabia silvestre se dan cuenta de que con la reducción de la población es poco menos que imposible reducir la incidencia de rabia. En varios Estados de los Estados Unidos se han organizado programas de control de zorros por medio de la introducción de virus de moquillo (distemper), por trampas, a veces por gases venenosos, inclusive se ha experimentado bastante con estrógenos para controlar los estros y reducir así la población de zorros. Son programas muy costosos que no reducen marcadamente la población, y menos el virus dentro de la población de los zorros. A pesar de las dificultades que puedan presentarse, creo que tenemos que pensar más seriamente en la posibilidad de vacunar poblaciones grandes de animales silvestres, sobre todo zorros, zorrinos y mangostas, con un procedimiento por el que posiblemente ellos mismos podrían aplicarse la vacuna al pisar un mecanismo especialmente diseñado o de otra manera.

Los períodos de incubación en estos animales son muy largos, llegando a veces a 5--6 meses, de manera que los casos pueden estar presentes y no visibles. En la fauna silvestre, los casos visibles constituyen la parte superior de una pirámide. Con la vacunación, se podría introducir una población de animales inmunizados en una zona de alta incidencia de rabia, que poco a poco iría disminuyendo.

DR. SIKES — El problema de controlar la rabia silvestre es difícil. La reducción de la población no parece ser un método eficaz. La población, dentro de una zona, puede ser reducida por un

tiempo, pero la capacidad reproductiva de los animales es tal que la recuperación es rápida; un animal con un período de incubación de la rabia largo puede mantener la infección en una zona. Un problema importante es conseguir una vacuna para las poblaciones de animales silvestres. Si podemos vacunar suficientes animales de una zona, podremos crear áreas "buffer" y controlar la infección. Nosotros hemos desarrollado una trampa que, cuando el animal la pisa, recibe una dosis de vacuna.

DR. RENATO DA SILVA — En Brasil se ha aislado por primera vez el virus rábico de una especie de lobo de América del Sur, el lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*). Tres de estos lobos, que estaban en régimen de cautiverio en el Jardín Zoológico de Brasilia, uno de ellos desde hacía 5 años y los otros desde hacía 1-2 años, presentaron rabia. Aislamos virus del cerebro de los 3 y de la glándula submaxilar de 1 de los animales. No sabemos cómo apareció la enfermedad en estos animales, pues los murciélagos de la región y algunos gatos que circundaban el ambiente no demostraron virus rábico. En cuanto a otros animales silvestres, diferentes investigadores en Brasil han aislado el virus del zorro, en el norte del país, del venado, tapir, y otros animales en cautiverio en los jardines zoológicos de diferentes Estados. Con respecto a la rabia en los murciélagos, hemos aislado diferentes cepas de virus principalmente de *Phyllostoma hastatus* y de *Desmodus rotundus*. Ultimamente hemos aislado también el virus rábico de un murciélago que consideramos tiene un gran papel en la epidemiología de la rabia: el *Chrotopterus auritus*, un murciélago carnívoro que come ratones silvestres. Hemos aislado virus sólo de dos especímenes. Hemos aislado virus rábico también de otra especie de vampiro, del *Diaemus youngi*; consideramos que es la primera vez que en Brasil se aísla virus de esta especie por cuanto los otros investigadores trabajaron siempre con *Desmodus rotundus* y *Diphylla ecaudata*.

DR. JOHNSON — Quisiera preguntar a los participantes de Bolivia y Ecuador si en esos países existe rabia en los zorros.

DR. AROCA — En el Ecuador no tenemos informes al respecto.

DR. ARAUJO — En Bolivia no se ha registrado rabia en zorros. En animales silvestres se ha encontrado sólo un caso de rabia en tejón, en Santa Cruz, y en vampiros. Tuve la oportunidad de aislar el virus rábico de un *Desmodus rotundus*.

DR. GREENHALL — Quisiera hacer un comentario sobre la transmisión de rabia sin mordedura en *Desmodus*. Los vampiros orinan copiosamente antes de alimentarse. Hay gente que ha notificado casos de rabia en bovinos sin señales de mordedura. Quizás no sabían dónde buscar las mordeduras; a veces, en el caso de los búfalos, los vampiros los muerden en las fosas nasales.

DR. BOHL — En Perú, desde 1962 hasta el presente, se han diagnosticado 4 casos de rabia en zorros. Hará aproximadamente unos 6 años, un médico sufrió una mordedura en un dedo; no le dio importancia, y pasados unos 40-50 días murió de rabia. También se ha presentado rabia en auquénidos y el Dr. Moro, de la Facultad de Medicina Veterinaria, ha publicado un trabajo sobre el tema.

DR. FUENZALIDA — En Chile se ha notificado un caso de rabia en zorros. Se enviaron 136 cabezas de zorros al Instituto Bacteriológico para investigación de toxoplasmosis y uno de los animales tenía virus rábico. Este animal había sido capturado a unos 30 Km. de Santiago, en una época que coincidía con un gran brote de rabia dentro de la ciudad. Probablemente haya una infección transmitida de perro a zorro, pero, sin embargo, hay una región al sur de Chile donde durante muchísimos años no se señaló ningún caso de rabia en perros, habiéndose notificado casos en bovinos, los cuales podrían ser atribuibles a una infección entre los zorros de la zona.

DR. COCOZZA — Me parece que la significación de la infección rábica en zorrinos está adquiriendo importancia creciente en los Estados Unidos. No es raro que las zonas abiertas de pronto se conviertan en centros suburbanos; el zorro generalmente desaparece entonces pero los zorrinos viven en contacto bastante cercano con el hombre. Esta situación puede ser particular de los Estados Unidos y no aplicarse a Sudamérica.

DR. SIKES — Pensamos que hay varios factores, además de una mejor notificación y diagnóstico, que han contribuido al aumento de la rabia selvática en los Estados Unidos. Uno de los factores puede ser la desvalorización de las pieles de zorrinos y zorros, de manera que nadie caza estos animales para comerciar las pieles. Además, el tipo de agricultura ha cambiado y el cultivo de la tierra contribuye a una mayor población de zorros y zorrinos. Los zorrinos son animales que se alimentan de desperdicios y restos alimenticios, aunque generalmente no penetran en las zonas densamente pobladas.

DR. PARKER — El problema de la rabia en zorrinos en los Estados Unidos es muy complejo. El hombre expande sus actividades hacia el "habitat" de los zorrinos, lo cual los pone en contacto más estrecho, posibilitando la observación y el descubrimiento de animales enfermos.

DR. ROSALES — Quisiera hacer un comentario sobre lo que dijo el Dr. Sikes acerca de la influencia de la rabia de los zorros especialmente cuando se ha eliminado la rabia canina. En el distrito de Puerto Cabello, del Estado de Carabobo, en la zona de la costa, se realizó hace 7-8 meses una intensa campaña de vacunación canina y de eliminación de perros. Es una zona donde la rabia canina era enzootica. Se realizaron alrededor de 18.000 vacunaciones y se eliminaron unos 5.000 perros y más o menos en 60 días la rabia canina bajó a cero.

Pero entonces, por primera vez, se constató en ese distrito la rabia en zorros.

En Venezuela tenemos 2 tipos de población bovina. Una población ganadera, que se desarrolla en los llanos, especialmente en el Estado Apure, donde hay más o menos 1.200.000 cabezas, y a pesar de que se ha constatado la presencia de murciélagos vampiros no hay rabia en bovinos, aunque no se vacuna. Por el contrario, en la zona de la montaña los brotes son enzoóticos, a veces con carácter epizootico, y frecuentemente se está diagnosticando rabia en bovinos. No sé si dentro de la misma especie de murciélago puedan existir factores que influyan para que, en dos regiones diferentes, en una se comporte como portador del virus rábico y transmisor a los bovinos y en la otra no exista rabia.

DR. BAER — En México, en el Estado de San Luis Potosí, en algunas zonas hay mucho ganado mordido por vampiros sin que se presenten casos de rabia paralítica. Sin embargo, en otras zonas, al sur del Estado, y en Estados que colindan con San Luis Potosí, se presentan brotes. De manera que en algunas regiones uno encuentra vampiros que no están infectados.

DR. RETAMOSO — En el año 1965, en un curso práctico sobre técnicas de laboratorio realizado por el Centro Panamericano de Zoonosis y el Instituto Nacional de Microbiología "Carlos Malbrán", hice hincapié sobre la mecánica y la modalidad de la rabia bovina en el norte de la República Argentina. Yo he trabajado en años anteriores en el sur de Bolivia y actualmente en el norte de Argentina con el mismo brote de la enfermedad. El brote se originó a 300 Km. al norte de la frontera con la República Argentina, en territorio boliviano, en una zona muy rica en vampiros, con cuevas gigantes, precisamente donde el Dr. Palacios da a conocer el único caso en Bolivia de rabia transmitida al hombre por los vampiros. Durante el año 1950 se difunde de norte a sur y llega a alcanzar, en 1959, la frontera con Argentina. La rabia se ha ido desplazando y tomando zonas nuevas. Actualmente se encuentra cerca de la provincia de Tucumán, o sea que más o menos desde 1959 ha progresado unos 500-600 Km. Al sur de esta línea hay zonas que tienen poblaciones excesivamente masivas de vampiros; en los animales se notan de 20 a 30 mordeduras, y sin embargo, no se registran casos de rabia. En cambio en la zona norte, donde las mordeduras son escasas, la rabia nos está diezmando el ganado y cada día se encuentran más casos.

Otro dato importante. Durante los últimos 3 años, en 10 casos positivos de bovinos de los cuales hemos aislado virus rábico del cerebro, no pudimos hallar virus en las glándulas salivales; en cambio, en un solo caso de rabia canina transmitida a bovino encontramos virus en las glándulas salivales. También se han realizado exámenes de animales silvestres sin encontrar casos positivos entre 40 muestras.

CAPITULO VII

VACUNAS ANTIRRABICAS

KARL HABEL *

Las vacunas antirrábicas y los principios inmunológicos involucrados en su uso son similares a los de otras vacunas para inmunización contra agentes infecciosos. De hecho, la vacuna Pasteur fue una de las primeras usadas en el hombre y no ha habido ningún cambio notable en la vacuna desde esa época. A pesar de todo, la vacuna antirrábica difiere de otras vacunas antimicrobianas en dos aspectos fundamentales. Primero, la rabia es la única enfermedad infecciosa del hombre en la cual se trata de inmunizar activamente al paciente después de la exposición e introducción del agente causal en su cuerpo. Segundo, las vacunas antirrábicas, aún como se las usa actualmente, representan el producto biológico menos purificado inoculado parenteralmente en los pacientes por médicos, y este material es inyectado no una vez, o dos, sino hasta 23 veces en el curso de un tratamiento.

Las vacunas antirrábicas son de dos tipos diferentes, según el principio involucrado en su producción de inmunidad: vacunas de virus vivos atenuados y de virus inactivados. Desde un punto de vista práctico están clasificadas, de acuerdo con las especies en las cuales se aplican, en humanas, caninas y bovinas. Finalmente, se hace una distinción entre inmunización previa y posterior a la exposición.

Hoy día, las investigaciones están dirigidas principalmente hacia el desarrollo de fuentes de virus más purificado para la producción de vacunas, con el objeto de reducir las posibles reacciones postvacunales y preservar o aumentar al mismo tiempo su poder inmunizante.

Vacunas de virus vivos atenuados. Para todas las vacunas, tanto atenuadas como inactivadas, se utiliza una cepa de virus que ha sido modificado desde su estado de virus calle natural. La mayoría de las cepas que se usan en la producción de vacunas provienen de virus que han sufrido una larga serie de pasajes por inoculación intracerebral de animales de laboratorio; un ejemplo clásico es la cepa Pasteur pasada en cerebro de conejo. Esas cepas llamadas "fijas" —cuyo período de incubación ha sido "fijado" en un número mínimo de

* Department of Experimental Pathology, Scripps Clinic and Research Foundation, La Jolla, California, Estados Unidos.

días, no importa cuántos pasajes adicionales se hagan— tienden a ser menos infecciosas cuando se las inocula por vía periférica y se multiplican hasta alcanzar títulos más altos que la mayoría de las cepas de virus calle.

El virus fijo es atenuado por diversos métodos, tales como desecado en el caso de la vacuna Pasteur, por tratamiento con fenol en la vacuna tipo Fermi o por pasaje en otro tipo de animal o en cultivo de tejido. En general, estas vacunas que contienen virus fijo atenuado proveniente de tejido cerebral de animales infectados se comportan como verdaderas vacunas vivas. Las verdaderas vacunas vivas deben contener un tipo de virus capaz de multiplicarse en el huésped vacunado sin provocar enfermedad clínica o complicaciones. El hecho de que una vacuna, como la de tipo Pasteur, contenga virus viable, no significa necesariamente que el virus se multiplica. En realidad, actúa igual que el virus inactivado en inoculaciones periféricas a menos que se usen dosis muy grandes. Entonces puede multiplicarse, pero cuando lo hace puede causar enfermedad ¡y de hecho causa rabia mortal!

En este momento no se conoce ninguna cepa de virus que haya probado ser capaz de multiplicarse en el hombre, produciendo inmunidad sin causar enfermedad. Sin embargo, existen tales cepas para uso en animales. El virus vivo atenuado de la vacuna es capaz de multiplicarse en el animal y producir una infección inaparente inmunizante. Estas vacunas tienen varias ventajas sobre las de tipo inactivado: la dosis puede ser generalmente más pequeña, una sola dosis es suficiente y la inmunización es de larga duración, o aún permanente. Es importante recordar que la atenuación o avirulencia del virus de una vacuna puede ser una propiedad cuantitativa y si se aplica en dosis muy grandes, puede producir la enfermedad. Además, una vacuna que es avirulenta para adultos puede ser virulenta para sujetos más jóvenes, como en el caso de la vacuna Flury de embrión de pollo para perros, que ha provocado rabia en cachorros de menos de 3 meses de edad.

El éxito mundial de la vacuna Flury¹ para cuya preparación el virus fue atenuado primero por pasaje intracerebral en embriones de pollo y luego por inoculación en el saco vitelino de huevos embrionados, ha estimulado la investigación de otros tipos de vacunas vivas verdaderas para otras especies. Así, la vacuna Flury de alto pasaje, más atenuada², la Kelev³, y la más reciente derivada de la cepa ERA propagada en cultivo de tejido⁴ han sido usadas para bovinos. En todas estas vacunas para uso animal, la inmunización no lleva involucrado un factor tiempo, ya que se aplican antes de la exposición.

Debe hacerse una advertencia final sobre las vacunas de virus vivo. El virus debe ser viable y a niveles infectantes *en el momento de su aplicación* en el campo. Esto requiere precauciones especiales con respecto a la preservación en ausencia de preservativos químicos; generalmente se usa la liofilización en vacío.

Vacunas inactivadas. En estas vacunas el virus es tratado de alguna forma para eliminar completamente la posibilidad de infectar o multiplicarse en cualquier tejido de cualquier especie. Las cepas de virus generalmente usadas son las cepas fijas Pasteur o de tipos similares. Como el virus no se multiplicará para producir más antígeno, la cantidad de virus o masa antigénica en cada dosis de vacuna es de suma importancia. Por esta razón, se buscan materiales virulentos con títulos muy altos. Los cerebros de animales infectados tienen títulos más altos que la médula espinal, y generalmente los cerebros de animales lactantes son los de más alto título. Embriones de pollo muy jóvenes también producen altos títulos de virus. Los cerebros de conejos, ovejas y ratones lactantes son los más usados hoy día.

Una variedad de agentes químicos y físicos han sido tratados exitosamente en el proceso de inactivación. Los puntos más importantes son: uniformidad de inactivación, ausencia de residuos tóxicos y preservación de la integridad antigénica de las proteínas virales. Los usados más frecuentemente son: fenol, beta propiolactona e irradiación ultravioleta.

Estas vacunas inactivadas se usan principalmente en el hombre, para inmunización antes y después de la exposición, y requieren la aplicación de dosis múltiples.

Esquemas de inmunización

Profilaxis previa a la exposición. La vacunación de animales tiene lugar, generalmente, antes de la exposición y con vacuna viva; por consiguiente, una dosis única es suficiente. Puede suponerse que si se ha usado una vacuna potente y virus viable para la inoculación, el animal estará protegido al mes. La vacuna Flury inmuniza a los perros por lo menos durante tres años y probablemente para toda la vida. Con vacuna ERA, la duración de la inmunidad en los bovinos es de por lo menos un año. Cuando se usa vacuna inactivada en cachorros debe dárseles una dosis de la tipo Flury entre los 6 y 12 meses de edad.

Para inmunizar antes de la exposición a grupos humanos que se encuentran en condiciones riesgosas, se usa una vacuna inactivada. Deben aplicarse dos dosis con intervalos de un mes entre cada una, seguidas de una dosis de refuerzo 6-8 meses más tarde. Si las condiciones de riesgo de exposición son continuas, deben aplicarse nuevas dosis de refuerzo cada 2-3 años.

El único control de eficacia de una inmunización es la prueba de neutralización con muestras de suero tomadas un mes después de la última dosis de vacuna. Se recomienda en todos los casos de vacunaciones humanas previas a la exposición que, si la prueba resulta negativa para anticuerpos antirrábicos, debe aplicarse otra dosis de refuerzo y repetirse la prueba un mes más tarde.

Profilaxis de post-exposición. En este caso el factor tiempo es de gran importancia, y ésa es la razón por la cual se requiere la aplicación de varias dosis diarias. En exposiciones leves, 14 dosis diarias, y en exposiciones severas, 21 dosis, seguidas, en ambos casos, por 2 dosis de refuerzo a los 10 y 20 días después de la última dosis diaria. El modo cómo se opera esta inmunización de post-exposición no está completamente claro aún. Sin embargo, parece no ser por interferencia o interferón sino más bien siguiendo las líneas inmunológicas convencionales. Aunque los anticuerpos antivíricos que se desarrollan en la sangre son importantes en este fenómeno, parece que hubiera involucrados factores adicionales.

Es debido al factor tiempo que se ha hecho tan importante para la inmunización de post-exposición el uso de suero inmune, ya que éste provee inmediatamente de anticuerpos preformados hasta que el paciente pueda desarrollar activamente los suyos como respuesta a la vacunación. Sin embargo, hay alguna interacción entre el anticuerpo del suero y el antígeno de la vacuna, la cual da como resultado una inhibición de la actividad antigénica de la vacuna. A causa de esto y a través de la experiencia de campo, ahora se recomienda la aplicación de una dosis de antisuero y 21 dosis diarias de vacuna, seguidas por dos dosis de refuerzo.

En el caso de exposición de una persona que había sido inmunizada exitosamente antes de ser expuesta, unas pocas dosis de refuerzo, aplicadas a los 0, 5 y 20 días serán suficientes.

Complicaciones y su eliminación

Como se mencionó antes, las vacunas antirrábicas actualmente en uso representan el producto biológico menos purificado que los médicos inoculan en seres humanos pero, lo que es más importante, son una fuente potencial de reacciones serias y aún fatales. La aparición no frecuente pero consistente de reacciones involucrando el sistema nervioso central han estimulado los esfuerzos para purificar la vacuna. El enfoque lógico ha sido encontrar fuentes de virus para la producción de vacunas diferentes a los cerebros de animales adultos que contienen el factor alérgico de la encefalitis.

Se han usado virus cultivados en embrión de pato⁵ y embrión de pollo⁶; con el primero se prepara la vacuna más usada hoy día en la práctica médica en los Estados Unidos. Sin embargo, aún aquí el factor encefalitogénico no ha sido completamente eliminado y se observan aún raras reacciones del SNC. En América del Sur, la vacuna preparada con cerebro de ratón lactante⁷ y en Rusia la de ratas lactantes⁸ están usándose en forma extensiva, ya que esos cerebros no han desarrollado aún el factor encefalítico. Como se ha mencionado en este Seminario, se están aplicando a las emulsiones de cerebro métodos fisicoquímicos modernos para separar el virus antigénico de todos los otros componentes⁹.

La nueva fuente de virus más promisoría para la preparación de vacunas es el cultivo de tejido de células de tipo no nervioso¹⁰.

Pruebas de la vacuna.

No importa cuál sea el tipo de vacuna o la fuente de virus para su producción, es obvio que ellas deben ser probadas. Esto implica el uso rutinario de una prueba de potencia estándar, para la cual hay varias elecciones posibles¹¹. Además de las pruebas de potencia, debe examinarse su toxicidad y esterilidad bacteriana, así como la ausencia de virus infectante en el caso de vacunas inactivadas. Para eliminar la posible presencia de agentes infecciosos endógenos en la fuente de tejido, la vacuna final es inoculada en animales sanos o cultivos de tejido de la misma especie usada para prepararla. En el caso de vacunas de cultivo de tejido pueden ser necesarias pruebas especiales para eliminar posibles contaminantes, tales como los micoplasmas.

Con las vacunas vivas atenuadas, es absolutamente necesario que antes de su uso rutinario se pruebe que son avirulentas para la especie y grupo de edad en los cuales van a ser usadas. Además deben contener una cierta cantidad mínima de virus viable y pasar las pruebas de potencia en animales.

Discusión y sumario.

Actualmente hay disponible una variedad de potentes vacunas antirrábicas, las cuales son de utilidad comprobada para producir una inmunidad alta y persistente en animales antes de la exposición. De la misma manera, hay disponibles vacunas para la profilaxis humana posterior a la exposición y aquí hay evidencias concluyentes de que el uso de antisuero combinado con una serie de vacunaciones y dosis de refuerzo es el mejor régimen. En mi opinión, la aplicación de una sola dosis de vacuna viva atenuada en tratamiento humano de post-exposición probablemente no sería eficaz. El tiempo requerido para la respuesta viral asintomática y la reacción inmunológica puede ser demasiado largo. Además, tales vacunas eliminarían la posibilidad de usar antisuero, ya que los anticuerpos probablemente neutralizarían el virus vivo de la vacuna e inhibirían su multiplicación. De cualquier forma, antes de que una verdadera vacuna viva pueda ser usada rutinariamente, sería necesario probar por experiencias de campo en gran número de sujetos que la misma es segura, especialmente para los niños muy pequeños.

Por el momento, el trabajo futuro parecería estar dirigido hacia el desarrollo de vacunas vivas atenuadas que provean inmunidad permanente después de una dosis y sean eficaces y seguras para todas las especies y todas las edades. El virus propagado en cultivo de tejido ofrece las mayores esperanzas en este sentido. En lo que respecta al tratamiento humano de post-exposición, la próxima conquista práctica serán probablemente las vacunas inactivadas preparadas con virus multiplicado en cultivo de tejido y libre de factor encefalítogénico.

REFERENCIAS

- ¹ Koprowski, H.; Black, J. Studies on chick-embryo adapted rabies virus. II. Pathogenicity for dogs and use of egg-adapted strains for vaccination purposes. *J. Immunol.*, 64: 185, 1950.
- ² Koprowski, H.; Johnson, W. P. Rabies in cattle. IV. Vaccination of cattle with high egg-passage chicken embryo adapted rabies virus. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 127: 363, 1955.
- ³ Kemrow, A. Resultados no publicados.
- ⁴ Abelseh, M. K. An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. *Can. vet. J.*, 5: 279, 1964.
- ⁵ Peck, F. B.; Powell, H. M.; Culbertson, C. G. A new antirabies vaccine for human use. Clinical and laboratory results using rabies vaccine made from embryonated duck eggs. *J. Lab. clin. Med.*, 45: 679, 1955.
- ⁶ Fox, J. P.; Koprowski, H.; Conwell, D. P.; Black, J.; Gelfand, H. M. Study of antirabies immunization of man. Observations with HEP Flury and other vaccines, with and without hyperimmune serum in primary and recall immunization. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 17: 869, 1957.
- ⁷ Fuenzalida, E.; Palacios R. Rabies vaccine prepared from brains of infected suckling mice. *Bol. Inst. Bact., Chile*, 8: 3, 1955.
- ⁸ Svet-Moldavskaia, I. A.; Svet-Moldavskii, G. I. Antirabies vaccine not producing post-vaccinal neuromyolytic complications. *Vop. Virusol.*, 7: 68, 1962.
- ⁹ Thomas, J. B.; Ricker, A. S.; Baer, G. M.; Sikes, R. K. Purification of rabies virus. *Virology*, 25: 271, 1965.
- ¹⁰ Wiktor, T. J.; Fernandes, M. V.; Koprowski, H. Cultivation of rabies virus in human diploid cell strain WI-38. *J. Immunol.*, 93: 353, 1964.
- ¹¹ Laboratory techniques in rabies. 2. ed. World Health Organization, Geneva, 1966 (Monogr. Ser. N° 23).

Comentarios

DR. KAPLAN — Un punto que quería mencionar es que hay evidencias de que las vacunas disponibles en este momento para perros y gatos —vacunas LEP y HEP— son seguras y eficaces si se las prepara y se las usa adecuadamente. Por consiguiente, es cuestionable el tiempo y esfuerzo que deben ser dedicados a la producción de nuevas vacunas para perros. Probablemente lo que necesitamos es una vacuna mejor para los bovinos y una vacuna más segura para uso humano, libre de factores paralíticos.

DR. STEELE — Una pregunta al Dr. Habel. Con individuos que han recibido tratamiento previo, ¿qué hacemos cuando se encuentran expuestos a rabia?

DR. HABEL — Cuando una persona ha recibido tratamiento antirrábico antes de la exposición y ha desarrollado anticuerpos en la sangre, nosotros recomendamos, al ser expuesta, 1-3 inyecciones de refuerzo con 5 días de intervalo. Este procedimiento se recomienda aún para exposiciones severas. Parece que, en estos casos, el antisueño tiene un efecto de interferencia y no se recomienda su uso.

DR. ROSALES — Quisiera preguntar si, habiendo un valor antigénico muy similar entre la LEP y la HEP, el uso de la vacuna de alto pasaje en perros adultos sería más conveniente o si tendría inconvenientes su uso, ya que la recomiendan para cachorros. La peligrosidad de esta vacuna quizás en alto pasaje sea menor que en la de bajo pasaje.

DR. SIKES — Nuestra experiencia con estudios limitados indica que la vacuna LEP es la más antigénica de las dos y nosotros la preferimos para los perros. La HEP está recomendada para el ganado. Yo creo que los investigadores de Canadá han estado realizando experiencias sobre esto y me gustaría oír su opinión.

DR. KAPLAN — La gente de Lederle ha experimentado bastante con ambas vacunas y ha encontrado que las dos son muy eficaces cuando se las usa adecuadamente.

DR. WALKER — Nosotros necesitamos una vacuna que sea segura y eficaz para todas las especies animales. Se ha reconocido hace tiempo que la vacuna LEP podía matar varias especies animales, incluyendo cachorros. En algunas experiencias realizadas hace tiempo, nosotros encontramos que la HEP era eficaz y segura para los perros, ovinos, caprinos, bovinos y gatos. Esto fue verdad para los perros y gatos de más de 2 meses de edad. En el ganado, encontramos que la HEP era eficaz en un 75% y no creemos que sea tan efectiva como algunas de las otras vacunas, ERA por ejemplo. Nosotros hemos encontrado que podemos diluir la vacuna ERA a 1:100 y aún confiere buena protección.

DR. KAPLAN — Toda esta información sobre HEP y LEP presupone que las vacunas son preparadas de acuerdo a los protocolos aceptados. El trabajo realizado por el Dr. Dean en Nueva York también ha demostrado que esas vacunas son seguras y eficaces.

DR. VILCHES — Mi pregunta se refiere a las recomendaciones de la OMS sobre el uso del suero. De acuerdo a las mismas, la dosis de suero a aplicarse debe ser de 40 unidades por Kg. de peso. Por consiguiente, yo creo que todo suero antirrábico debe ser estandarizado de acuerdo al suero de referencia de la OMS. Si un suero tiene una potencia muy baja puede dar resultados pobres, y si tiene una potencia muy alta puede interferir indebidamente con la vacuna.

DR. HABEL — Este es un punto muy interesante y no tenemos información sobre la cantidad de interferencia que un suero de alta potencia puede producir. Si la vacuna usada tiene un grado de antigenicidad muy alto, probablemente sobrellevará los efectos del suero. No sabemos si un suero de potencia muy alta debe o no ser diluido.

DR. MORA — Relacionando lo que mencionaba el Dr. Sikes sobre aquellas pruebas biológicas que resultaban negativas para un Ne-

gri positivo y una fluorescencia positiva —y él lo atribuye a la existencia de factores inhibidores tales como el suero y la presencia de anticuerpos en el suero— mi pregunta específica es la siguiente: ¿qué grado de correlación existe entre los títulos de anticuerpos neutralizantes circulantes y la protección contra la rabia?

DR. HABEL.— En los animales de experimentación, la potencia de la vacuna y el suero usados determinan la respuesta de anticuerpos que Ud. obtendrá. Trabajando con perros se encontró que animales inmunizados con cualquier clase de vacuna, si al momento de la confrontación los animales demuestran algún nivel de anticuerpos, estarán protegidos. Sin embargo, no todos los perros negativos a la presencia de anticuerpos fueron susceptibles. Esto no significa que los perros eran realmente negativos a la presencia de anticuerpos sino que nuestra prueba pudo no ser lo suficientemente sensible.

DR. BAER.— En la prevención de la rabia, sabemos el lugar y el tiempo exactos de exposición; y tenemos la gran ventaja de poder lavar la herida. Se ha comprobado que se puede reducir la mortalidad en animales de laboratorio de 90 a 0% con el simple lavado con agua de canilla. Siempre hay que recordar esto aún antes del tratamiento con suero y vacuna de las personas expuestas. Quisiera preguntar al Dr. Habel su opinión con respecto a la vacuna de alto pasaje, HEP. El Comité de Expertos recomienda una dosis de la vacuna de bajo pasaje en perros y 2 dosis en los bovinos. ¿Cómo actúa esa vacuna en el bovino?

DR. HABEL.— Una vacuna de virus vivo que requiere más de una dosis para inmunizar no está actuando como tal en el sentido a que yo me he referido. Si la vacuna tiene un título de virus suficientemente alto como para establecer una infección inaparente, que es lo que estamos buscando, entonces una dosis será suficiente. El hecho de que la vacuna HEP haya requerido 2 dosis en manos de algunas personas indica que la vacuna no se está comportando como debería.

Si se usan vacunas vivas para el tratamiento humano de post-exposición el uso del suero debe ser eliminado. Si el antisuero interfiere con una vacuna muerta podemos esperar el mismo efecto con una de virus vivo.

DR. TREJOS.— Se sabe que los animales pueden infectarse por vía aérea. Me pregunto si alguien ha tratado de inmunizar animales con aerosoles.

DR. BAER.— En Nuevo México tratamos de inmunizar murciélagos, no ya por aerosoles pero aplicando virus en la mucosa nasal de 4 animales. No son muchos, pero tanto ellos como los 4 testigos no resistieron la exposición y no hubo producción de anticuerpos.

DR. HABEL — Para infectar animales por vía respiratoria se requiere una dosis muy alta de virus, mucho más que para la vía intramuscular. Este hecho puede ser un factor limitante en la inmunización de animales por ese método.

DR. ATANASIU — Quisiera preguntar qué cepa de virus se usa para preparar vacunas en América latina. Parece que cada laboratorio emplea una cepa diferente y me gustaría saber si el Dr. Habel no cree que esas diferentes cepas deberían ser probadas en cuanto a antigenicidad. Además, muchos tipos de células diferentes se usan para cultivo de tejido y yo me pregunto si no deberían ser examinadas para determinar el mejor sistema. Finalmente, algunas personas se presentan muy tarde para recibir tratamiento y yo me pregunto si debemos usar suero con esa gente.

DR. HABEL — Trataré de contestar primero a la última pregunta. Hay mucha confusión con respecto al uso del suero y la vacuna. Las recomendaciones de la OMS dicen que el suero debe ser aplicado dentro de las 72 horas después de la exposición. Esta afirmación no significa que el uso del suero deba limitarse a las personas que se traten antes de las 72 horas. Si el suero más la vacuna es el mejor tratamiento de post-exposición, lo es no importa cuánto tiempo pase desde la exposición. De hecho, cuanto más se pospone el tratamiento, más importante es proveer de una protección rápida.

Con respecto a las cepas de virus y a las varias células en cultivo, éste es un asunto muy importante. Mucha gente piensa que debe desarrollar sus propias cepas de virus para ser usadas en la producción de vacuna en su país. Esta práctica no tiene justificación científica porque todas las cepas de virus rábico tienen el mismo origen. De otra forma, la prueba de anticuerpos fluorescentes no podría ser usada en todo el mundo y las vacunas vivas o muertas no podrían inmunizar en todo el mundo. Hasta el presente, no hay evidencia de que las cepas de virus rábico sean distintas en los diferentes países.

Con la gran cantidad de experiencia que tienen algunos investigadores, por ejemplo con la producción y el empleo de la vacuna LEP, no parece necesario que alguien más trate de producir su propio tipo de vacuna adaptada a embrión de pollo. Si alguien tiene evidencias de que posee una cepa de virus rábico que actúa en forma diferente y quiere perder tiempo y esfuerzo en adquirir la experiencia necesaria, entonces quizás podría tratar de producir otra vacuna.

Con respecto a las líneas celulares, no tenemos conocimiento de que diferentes líneas celulares, en diferentes laboratorios, den diferentes producciones de virus. Con respecto a la producción de vacuna en cultivo de tejido, debemos buscar el sistema que produzca más virus. Sin embargo, esta línea celular puede estar compuesta por células tumorales, y no queremos inyectar células tumorales en el hombre o en los animales. Nosotros estamos buscando un sistema ce-

lular normal estándar. La razón de que el grupo del Wistar use células diploideas humanas es que ellas provienen de una línea estandarizada y han sido usadas para muchas experiencias controladas; si tal línea puede ser usada para la producción de vacuna, mucho mejor.

Lo mismo si se está usando una vacuna de tejido nervioso, tipo Pasteur por ejemplo, no hay razón para que cada uno desarrolle sus propias cepas de virus para una vacuna muerta. Algunas cepas de virus varían en su poder inmunizante y la cantidad de antígeno puede variar de una cepa a otra. El hecho de que Ud. tenga una cepa de virus rábico y la haya fijado no significa que ésta tendrá las mismas propiedades inmunizantes que, digamos, la cepa Pasteur.

DR. ACHA — Quisiera pedir al Dr. Habel que comente algo sobre la posibilidad de que un perro, vacunado con LEP, descargue el virus en la saliva después de haber sido inmunizado o, inclusive, que se convierta en portador sano. Lamentablemente este concepto ha sido muy difundido en la literatura y en los periódicos, presentándose en varios países problemas para el empleo de la vacuna LEP.

DR. HABEL — Todos los intentos realizados hasta el presente de descubrir la presencia de virus LEP después de la vacunación han dado resultados negativos. El virus no puede ser recobrado después de la vacunación, ni siquiera del músculo donde fue inyectado. Parece que el virus desapareciera en una fase de eclipse como explicó el Dr. Wiktor. La única razón por la cual nosotros podemos decir que el virus se está multiplicando es que si tomamos el virus de la vacuna y lo titulamos, su poder inmunizante se diluye más o menos al mismo nivel que su título de infectividad. Esto significa que el virus está inmunizando sobre su habilidad para multiplicarse, y por esta razón decimos que produce una infección inaparente, pero no porque podamos aislar el virus después de la vacunación.

DR. KAPLAN — Es muy importante que para las vacunas de embrión de pollo se use una cepa LEP de origen y de poder inmunizante conocidos, y no un virus con propiedades desconocidas; además, la vacuna debe emplearse de acuerdo a las directivas. A menudo ocurren problemas cuando los individuos tratan de desarrollar su propia cepa o subpasar una cepa LEP para modificarla. La OMS ha dado a conocer sus recomendaciones para la producción y el uso de la vacuna LEP.

DR. FORREST — En la ejecución de la prueba de potencia preconizada por el Dr. Habel sobre 9 series de vacunas preparadas por distintos laboratorios, especialmente con vacuna Fuenzalida, hemos utilizado simultáneamente 2 cepas de virus de control: CVS y virus Pasteur vacuna. Hemos encontrado resultados dispares. Por ejemplo, la vacuna probada con la cepa CVS nos dio en un caso una protección de 51.280 DL₅₀, y con la cepa Pasteur vacuna nos dio 1.500 DL₀₅.

Quisiera preguntar al Dr. Habel qué cepa ha de utilizarse para la prueba de potencia en lo sucesivo.

DR. HABEL — Hace más de 20 años que investigamos la cuestión de la potencia de las vacunas, las mejores cepas de ratones y de virus a ser usadas. La cepa CVS fue elegida como resultado de estas investigaciones porque era una cepa intermedia en su habilidad de romper la inmunidad producida después de la vacunación. Al probar grandes grupos de ratones en su inmunidad después de la vacunación, algunas cepas de virus mostraron que todas las vacunas eran altamente protectoras; en otras palabras, no sometieron a la vacuna a una prueba muy severa. Otras cepas de virus fijo no demostraron protección porque ellas mataban a los ratones. De manera que nosotros seleccionamos una cepa de virus fijo que estuviera más o menos en el medio de este espectro, la cepa CVS.

DR. FUENZALIDA — Cuando se establece el "booster" después de una inmunización previa con suero, se aconseja utilizar un virus vivo. Yo pregunto si en personas previamente vacunadas la infección natural pudiera hacer las veces de "booster".

DR. HABEL — Nosotros presumimos que el virus introducido a través de una herida actuará igual que un virus vacunal, esto es, reforzará el nivel de anticuerpos. Es sobre esta base que decimos que si una persona que ha recibido tratamiento preventivo es expuesta luego al virus rábico sólo deberá recibir inyecciones "booster" y no toda la serie completa.

DR. PORZECANSKI — Cuando se administra suero y vacuna para la protección contra el tétano se recomienda dar primero la vacuna, esperar una hora y después aplicar el suero. Yo quisiera saber si en la protección contra la rabia hay que dar también la vacuna primero y el suero una hora después, o si pueden darse juntos en dos lugares diferentes.

DR. HABEL — Yo creo que cuando el Comité de la OMS recomendó por primera vez el uso de suero y vacuna estableció que el suero debía ser administrado el primer día de exposición y comenzar la vacunación al día siguiente. En realidad, al experimentar con animales usando suero y vacuna yo he obtenido mejor protección al dar el suero, esperar 6 días y recién entonces comenzar con la vacunación. Desde un punto de vista práctico, después de ensayar con voluntarios humanos, nosotros recomendamos que el suero y la vacuna sean aplicados al mismo tiempo. Por supuesto, en lugares diferentes.

DR. KAPLAN — Hay algunos trabajos experimentales sobre otras vacunas y otros virus diferentes al de la rabia que indican que si se aplica la vacuna un poco antes que el suero, una hora antes por ejemplo, puede reducirse el efecto de interferencia. Quizás debería estudiarse esto con respecto al virus rábico.

ESTADO ACTUAL DE DESARROLLO DE LA VACUNA ANTIRRABICA PREPARADA DE CEREBROS DE RATONES LACTANTES EN LATINOAMERICA

EDUARDO FUENZALIDA *

Desde el año 1954, cuando se dieron a conocer en la Tercera Jornada de la Sociedad Chilena de Salubridad los primeros resultados obtenidos en el laboratorio¹, la vacuna antirrábica preparada con virus fijo obtenido de cerebros de ratones lactantes e inactivada por luz ultravioleta (CRL), ha sido objeto de numerosos estudios experimentales y además de extensas aplicaciones en el campo, tanto en la profilaxis humana como en el control de la rabia animal.

El método de preparación de la vacuna CRL² ha sido adoptado por laboratorios oficiales y privados de diferentes países latinoamericanos. La comprobación de una elevada potencia antigénica y la sencillez, rendimiento y bajo costo del método de elaboración, han determinado esta adopción. Además, debido a la ausencia de sustancias encefalíticas en el cerebro de los ratones lactantes con los cuales se elabora la vacuna, ésta está siendo utilizada en mayor escala en la profilaxis de la rabia humana.

La vacuna CRL está entre las que el Comité de Expertos en Rabia de la OMS recomienda para la profilaxis humana³. La carencia de demostraciones experimentales sobre duración de la inmunidad conferida a perros y la insuficiente información sobre su uso en el control de la rabia animal, han determinado que el Comité la considere aún entre las "vacunas en desarrollo".

La presente comunicación tiene por objeto dar una información actualizada de los resultados obtenidos con la vacuna CRL en evaluaciones en el laboratorio, sobre su desempeño en la profilaxis humana y en el control de la rabia animal.

Resultados en el laboratorio

Potencia antigénica. Diversos laboratorios han enviado muestras de las vacunas antirrábicas del tipo CRL para que sean controladas oficialmente en el Centro Panamericano de Zoonosis. Todas estas vacunas fueron controladas según el método de Habel⁴. La mayor parte de las vacunas examinadas fueron diluidas para la prueba hasta una concentración de tejido nervioso del 0.1% en lugar de 0.5% indicado por el método. Esta modificación se justificó al observar que en algunos lotes no se lograba obtener el título final. Los resultados se presentan en el Cuadro I.

* Centro Panamericano de Zoonosis, Oficina Sanitaria Panamericana, Casilla 23, Ramos Mejía, Argentina.

Anticuerpos neutralizantes. En un ensayo comparativo en el hombre, en dos grupos de voluntarios, se demostró la relación existente entre la potencia antigénica de la vacuna CRL y su condición inmunológica para la inducción de anticuerpos antirrábicos neutralizantes de alto título en todos los individuos tratados (Cuadro II). La vacuna inactivada preparada en cerebro de conejo y con la cual se comparó la CRL en esta experiencia, dio resultados muy inferiores no obstante poseer una potencia antigénica aceptable⁵.

La vacunación con un esquema reducido de 3 ó 5 dosis administradas día por medio determinó, en voluntarios del Centro Panamericano de Zoonosis, un elevado nivel de anticuerpos 21 días después de la primera vacuna. Estos ensayos se realizaron para establecer esquemas apropiados para ser aplicados a personas que, por su actividad, tengan riesgo de contacto con virus rábico. Todas estas personas tuvieron anticuerpos a los 21 días y en títulos cuyas medianas fueron de 1:180 para los 16 voluntarios que recibieron 3 dosis y de 1:200 para los 9 que fueron tratados con 5 dosis⁶.

La respuesta inmune expresada también en la elevación del nivel de anticuerpos neutralizantes antirrábicos, es altamente satisfactoria en caballos⁷. En bovinos, esta respuesta es relativamente débil con la vacuna convencional, pero es cuantitativamente superior cuando la vacuna es aplicada adicionada de hidróxido de aluminio y se aumenta la concentración de tejido⁸. En perros ha podido comprobarse una rápida respuesta en anticuerpos, los cuales aparecen en su mayor concentración a los 15 días de la vacunación. Se pudo establecer que la vía intramuscular es más apropiada que la subcutánea (Cuadro III).

Control de rabia canina.

Los resultados obtenidos con la inmunización de los perros de las dos áreas más densamente infectadas de Chile, fueron dados a conocer en 1965⁹. Este programa se llevó a cabo vacunando más del 70 % de la población canina estimada en cada una de estas áreas, en 1961 y 1963, respectivamente. Posteriormente, incluido el año 1966, las nuevas vacunaciones se redujeron a inmunizar en forma selectiva los sectores del área en que se presentaron focos.

Con el objeto de hacer resaltar el efecto de la vacunación masiva sobre la rabia enzoótica observada en Santiago durante más de 30 años, vale la pena señalar el hecho de que por razones no claramente determinadas, la enfermedad se ha manifestado con curvas epizooticas cuyas máximas prevalencias regularmente se producen cada 5 años. Esta característica hacía esperar un nuevo brote en estas áreas durante el año 1965. El Gráfico I que representa dicho fenómeno, muestra cómo en el año 1965 la curva epizootica no manifestó su alza periódica por primera vez en 30 años.

La rabia animal en esta área ha estado disminuyendo desde 1960 durante 6 años consecutivos, no obstante que en ella aparecen casos

aislados de rabia correspondientes a perros no vacunados o ingresados de áreas infectadas.

En la otra área epizootica, Valparaíso, la vacunación de 13.000 perros en 1963, continuada por la vacunación de 58.187 en enero de 1964, ocasionó un descenso de tal magnitud que durante todo el año 1965 y hasta octubre de 1966, no se ha registrado un solo caso de rabia canina. El programa de vacunación en esta área contempló el control total de la provincia, incluidas las zonas rurales.

A partir de fines de 1964, los esfuerzos se desviaron a realizar programas selectivos en otras áreas en las cuales los focos de rabia son de menor magnitud. Esto ha determinado la disminución del número de casos registrados ahora en el país y que ha llegado al nivel más bajo de los últimos 30 años. (Cuadro IV).

Probablemente una de las más dramáticas demostraciones de la invasividad de la rabia en una zona enteramente susceptible, es el cuadro que se ha presentado en Uruguay desde julio de 1965 hasta junio de 1966. Desde hacía 20 años no se registraban casos de rabia en el área correspondiente a la capital uruguaya. Después de la aparición de casos esporádicos en 1964, en julio de 1965 se presentaron los primeros del gran brote epizootico y en los 11 meses siguientes se registraron 628 casos en total. Aumentaron por otra parte las denuncias de rabia en la frontera con Brasil y aparecieron algunos casos aislados en áreas intermedias¹⁰.

Se montó un programa de contención y control del brote epizootico que se basó principalmente en la vacunación de la población canina susceptible y restricción del perro callejero. Para la vacunación se importaron 50.000 dosis de vacuna modificada en embrión de pollo y se aceleró la producción nacional de vacuna CRL.

El Gráfico II consigna la información sobre el número de animales vacunados en cada una de las áreas infectadas, desarrollo del brote en cada una de ellas antes de la vacunación y en los meses ulteriores. La campaña de control fue completada con la eliminación de 21.399 perros capturados en la calle¹¹.

Teniendo en consideración que la población canina de las áreas afectadas era completamente susceptible antes de iniciado el programa de vacunación, se pueden apreciar los resultados favorables obtenidos con ella (Gráfico II).

Profilaxis de la rabia en el hombre.

En Chile desde 1960 hasta 1965, han recibido tratamiento anti-rábico con esquemas superiores a 10 dosis, 27.575 personas sin que se hayan registrado reacciones sistémicas postvacunales.

Desde 1962 hasta octubre de 1966 no hay casos de rabia humana en las dos zonas controladas. En cambio, en el mismo período, se registran en las otras áreas 15 casos de rabia en personas sin tratamiento⁹.

En Buenos Aires se aplica vacuna CRL desde 1964. Fernández

y Arrosi²² publican resultados obtenidos durante 1964 y 1965 en 30.000 personas y establecen una comparación con un número similar de personas tratadas en los años 1962 y 1963 con vacuna tipo Semple (Cuadro V).

En Lima se elabora la vacuna CRL desde 1963 y se empezó a aplicar en el tratamiento humano en forma exclusiva desde 1964. Hasta 1965 se habían aplicado 15.000 tratamientos completos sin registrar accidentes postvacunales, ni fallas atribuibles a la vacuna²³.

Briceño Rossi¹⁴ comunica los resultados obtenidos en su laboratorio en Caracas y señala, además, el monto de vacuna CRL entregada para el tratamiento antirrábico humano. En 1967 aparecieron 7 casos, en 4.980 personas, de polirradículo neuritis, lo cual motivó la suspensión inmediata de la elaboración de la vacuna hasta que se pudiera hacer en condiciones apropiadas.

Loures¹⁵, en comunicación oficial a la Oficina Sanitaria Panamericana, da a conocer los resultados obtenidos en el laboratorio de rabia del Instituto Oswaldo Cruz, de Río de Janeiro. Señala que desde octubre de 1964 hasta agosto de 1966 se han distribuido 128.000 dosis en varios estados de Brasil; una parte de éstas fueron exportadas al Vietnam y a la República Dominicana.

Achilles Cali¹⁶ comunica oficialmente a la Oficina Sanitaria Panamericana en Río de Janeiro la aplicación de tratamiento antirrábico con vacuna CRL a 17.200 personas. No hubo fallas en el tratamiento, ni reacciones postvacunales que lamentar. En el mismo período de tiempo (1965 hasta julio 1966) fallecieron de rabia 18 personas que no recibieron tratamiento.

Porzecanski¹⁷ en carta oficial al Centro Panamericano de Zoonosis da cuenta de que durante el período transcurrido desde octubre de 1965 al 15 de junio de 1966 fueron tratadas con vacuna antirrábica del tipo CRL, 1937 personas, sin que se registraran fracasos ni accidentes postvacunales (Cuadro VI).

Conclusiones

Todas las vacunas CRL que han sido sometidas a pruebas de potencia en el Centro Panamericano de Zoonosis no sólo cumplieron los requerimientos mínimos, sino que además mostraron una gran riqueza en su antígeno específico.

Las respuestas inmunes expresadas en anticuerpos antirrábicos, tanto en el hombre como en animales, fueron muy superiores a las que se han logrado con otros tipos de vacunas inactivadas.

Los dos países que usaron la vacuna CRL en programas de control de la rabia canina lograron reducir las epizootias en forma clara, lo cual demuestra su eficacia en la inmunización de perros.

La vacuna CRL, cuya concentración de tejido nervioso es mínima, ha demostrado ser un buen elemento para la protección del hombre expuesto a contagio. Es particularmente importante el hecho de que, no obstante haber sido tratados en los diferentes países un nú-

mero superior a 90.000 personas, no se han descrito accidentes post-vacunales que puedan atribuirse a esta vacuna. A este respecto es oportuno establecer que tales accidentes podrían presentarse con vacunas del tipo CRL preparadas con cerebros de ratones de más de 10 días, edad sobre la cual comienza la formación de sustancias encefalíticas.

CUADRO I

Título de potencia antigénica según el método de Habel de vacunas CRL

Ubicación del Laboratorio	Serie	Vacuna para uso:	Fecha de la prueba	DL ₅₀ de protec.	Observaciones
Cepanazo	1	Experimental	31-X-64 (1)	>100.000	
Cepanazo	2	Experimental	2-XI-64 (1)	426.000	
Cepanazo	3	Experimental	7-XI-64 (1)	229.000	Inactivación con beta propiolactona
Montevideo	14	Humano	30-XI-64 (1)	338.000	
Montevideo	14	Humano	30-XI-64 (1)	58.800	10 ds. a temperatura ambiente.
Santiago	95	Experimental	1-XII-65 (1)	>645.700	Liofilizada.
Montevideo	48	Humano	2-XI-64	>100.000	
Buenos Aires	4	Canino	2-XI-64	100.000	
Lima		Humano	1-III-65	426.000	
Santiago	97	Humano	1-III-65	61.700	
Santiago	98	Canino	1-III-65	426.000	
Santiago	99	Humano	1-III-65	501.200	
São Paulo	2	Humano	17-V-65	>100.000	
Montevideo	16	Canino	14-XII-65	>1.000.000	
Montevideo	18	Humano	8-I-66	617.000	
Santiago	119	Humano	15-IV-66	>10.000.000	
Montevideo	20	Canino	15-VI-66	>1.000.000	
Montevideo	22	Canino	10-VI-66	>10.000.000	
Santiago	127	Bovino	24-VI-66	1.778.000	Liofilizada.
Caracas	29	Humano	24-VI-66	912.000	
Buenos Aires	15	Canino	15-VII-66	147.900	
Pôrto Alegre		Canino	31-VIII-66	>1.000.000	Liofilizada.
Buenos Aires	11	Bovino	31-VIII-66	17.780	

(1) Todas estas vacunas fueron diluidas al 0,5 % para la vacunación de los ratones; las restantes se diluyen al 0,1 %.

CUADRO II
Respuesta de anticuerpos en personas vacunadas con diferentes
tipos de vacunas (14 dosis)

Recíproca de los títulos de SN	DÍAS DESPUÉS DE LA PRIMERA DOSIS											
	7 - 10			11 - 21			31 - 60			6-9 meses		
	VEP ¹	Sample ¹	CRL ²	VEP	Sample	CRL	VEP	Sample	CRL	VEP	Sample	CRL
0	26.5 ³	64.6	—	14.4	14.5	0	6.7	2.8	0	10.5	11.4	0
4-15.9	48.2	27.4	—	36.1	26.7	0	22.6	7.0	0	23.7	29.5	16.6
16-63.9	21.7	5.1	—	41.3	43.3	9.7	46.7	33.3	0	55.2	36.3	16.7
64-127.9	2.4	0	—	7.2	11.1	3.2	16.0	33.3	4.2	5.3	11.4	50.0
128	1.2	2.5	—	1.0	4.4	87.1	8.0	23.6	95.8	5.3	11.4	16.7
Porcentaje positivos	73.5	35.4	—	85.6	85.5	100	93.3	97.2	100	89.5	88.6	100

¹ Greenberg y Childress, J. Amer. Med. Ass., 173: 333, 1960.

² Fuenzalida y col., Bull. Wld. Hlth. Org., 30: 431, 1964.

³ Distribución porcentual.

CUADRO III

Títulos de SN de perros vacunados con vacuna CRL

Nº de perros	Vía inocul.	MEDIANA DE TITULOS DE SN DIAS DESPUES DE LA VACUNACION				
		0	15	30	106	175
16	SC	< 2	77	37	3	2
15	IM	< 2	162	120	25	12

CUADRO IV

Efectos de la vacunación sobre el número de casos
de rabia canina en Chile

AÑOS	SANTIAGO		VALPARAISO		OTRAS AREAS		Nº TOTAL
	% V	Nº	% V	Nº	% V	Nº	
1960	16	251	15	147	10 ¹	172	570
1961	70	206	11	112	10	197	515
1962	27	64	10	107	10	201	372
1963	23	27	24	30	10	143	200
1964	37	16	75	4	25	166	186
1965	17	17	0	0	55	106	123
Oct. 1966	?	23	0	0	?	33	56

% V = Porcentaje de la población canina vacunada en cada año.

Nº = Número de casos diagnosticados cada año en el laboratorio.

¹ = El porcentaje es aproximado y se ha calculado por el número de dosis de vacunas remitidas a esas áreas.

CUADRO V

**Casos de accidentes vacunales y rabia en personas tratadas
con vacunas antirrábicas Semple y CRL**

TIPO DE ACCIDENTE	Nº DE CASOS	
	1962 - 63 con vacuna Semple	1964 - 65 con vacuna CRL
Postvacunal severo	50	0
Postvacunal mortal	17	0
Rabia por falta de tratamiento	17	1 *

* Tratada tardíamente a partir del 5º día de la mordedura.

CUADRO VI

**Resumen de aplicación de vacuna CRL en
diferentes países de Sudamérica**

PAIS	TRATAMIENTO		Accidentes	Fallas	Fallecimientos p/trat. tardío
	desde	hasta 1965			
Argentina	1964	30.000	0	0	1
Brasil	1964	17.200	0	0	
Chile	1960	27.575	0	0	1
Perú	1963	13.000	0	0	1
Uruguay	1963	1.937	0	0	
Venezuela	1965	9.395	0	0	

Gráfico 1

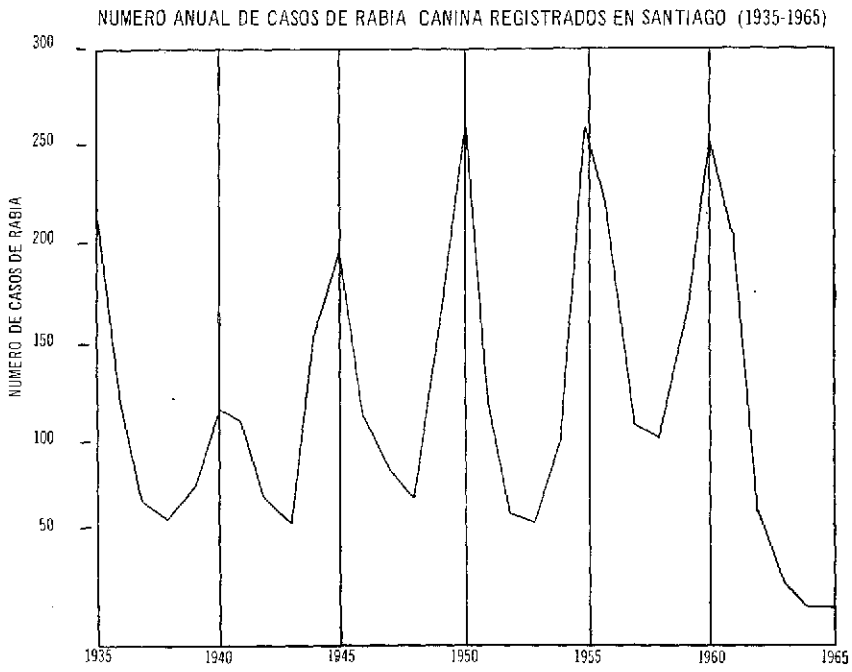
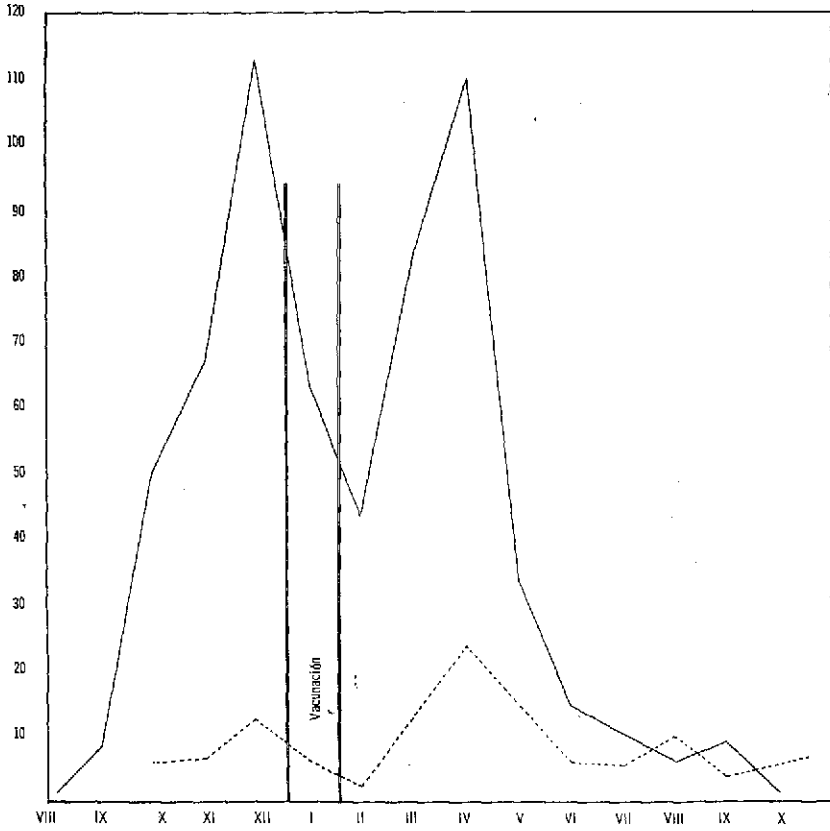


Gráfico II

CASOS DE RABIA EN MONTEVIDEO Y CANELONES



— Casos de rabia en Montevideo donde se vacunaron 222.885 perros, o sea el 89% de la población canina.
 - - - Casos de rabia en Canelones donde se vacunaron 49.071 perros, o sea el 45% de la población canina.

REFERENCIAS

- ¹ Fuenzalida, E.; Palacios, R. Un método mejorado para la preparación de la vacuna antirrábica. *Bol. Inst. Bact. Chile*, 8: 3-10, 1955.
- ² Fuenzalida, E. La vacuna antirrábica en cerebro de ratón lactante. Método *Curso sobre Laboratorio y Epidemiología de la Rabia*, Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1965.
- ³ WHO Expert Committee on Rabies. Fifth report. World Health Organization, Geneva, 1966 (Tech. Rep. Ser. N° 321).
- ⁴ Técnicas de laboratorio aplicadas a la rabia. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 1955 (Ser. Monogr. N° 23).
- ⁵ Fuenzalida, E.; Palacios, R.; Borgoño, M. Antirabies antibody response in man to vaccine made from infected suckling-mouse brains. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 30: 431-436, 1964.
- ⁶ Godoy, A. M. Estudios de anticuerpos antirrábicos formados en personas inmunizadas con vacuna de cerebro de ratón lactante. I. Esquemas de vacunación con número reducido de dosis con y sin inmunización de refuerzo, Informe presentado en cumplimiento parcial del programa de estudios de post-graduado en el Centro Panamericano de Zoonosis, Azul, Argentina, febrero-julio de 1966.
- ⁷ Fuenzalida, E.; Fuenzalida, L. Tratamiento antirrábico de especies domésticas con vacuna de cerebro de ratón lactante. *V Convención de Médicos Veterinarios*, Valdivia, Chile, 1965 (en prensa).
- ⁸ Fuenzalida, E.; Fábrega, F. Ensayos con vacuna antirrábica de ratón lactante en bovinos. *I. Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. Caracas, Venezuela, 1966 (en prensa).
- ⁹ Fuenzalida, E.; Palacios, R.; Borgoño, M. The use of rabies vaccine prepared in suckling-mouse brain. *International Symposium on Rabies*, Talloires, Francia, 1965. Symp. Ser. Immunobiol. Standardization, 1: 339-345, 1966.
- ¹⁰ Málaga Alba, A. Consultor en rabia de la Oficina Sanitaria Panamericana en Uruguay. Informe final, 1966.
- ¹¹ Pérez Moreira, L. Asesor en el Ministerio de Salud Pública, Montevideo, Uruguay. Informe oficial a la Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina de Zona VI, 1966.
- ¹² Fernández, A.; Arrosi, J. C. Atención de personas mordidas por animales y tratamientos preventivos de la rabia. *Revista Pasteur*, Avellaneda, Argentina, 1: 16-24, 1966.
- ¹³ Bohl, M. Situación actual de la rabia en el Perú. *Curso sobre Laboratorio y Epidemiología de la Rabia*. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1965.
- ¹⁴ Briceño Rossi, A. L. y col. Vacuna antirrábica en ratones lactantes irradiada a UV. *Ciencia al Día*, Venezuela, 4: 67-69, 1965.
- ¹⁵ Loures, J. Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Brasil. Comunicación a la Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina de Zona V, 1966.
- ¹⁶ Achilles, R. Instituto Pasteur, Río de Janeiro, Brasil. Comunicación a la Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina de Zona V, 1966.
- ¹⁷ Porzecanski, B. Instituto Antirrábico, Montevideo, Uruguay. Comunicación al Centro Panamericano de Zoonosis, 1966.

Comentarios

DR. NEVES DA SILVA — Nosotros estamos empleando la vacuna CRL con una pequeña modificación; inactivamos el virus con beta-propiolactona en lugar de luz ultravioleta. Sobre 12.000 personas vacunadas no hemos tenido ningún accidente ni tampoco ningún caso de rabia en las personas tratadas. Además tiene la ventaja de que la beta-propiolactona es mucho más económica que el aparato para luz ultravioleta.

DR. FUENZALIDA — No tengo experiencia con el uso de la beta-propiolactona en la inactivación del virus, pero sé que se puede utilizar perfectamente, ya que la misma vacuna de embrión de pato es inactivada con ella. Es una sustancia que no tiene acción deletérea de manera que, bien utilizada, no tiene por qué dar resultados inferiores a la luz ultravioleta. Naturalmente, no puede pensarse en el fenol, en el formol o en otras sustancias que quedan incorporadas a la vacuna.

DR. KAPLAN — Yo quisiera decir una palabra de aviso. Uds. saben que la vacuna Fuenzalida está inactivada con luz ultravioleta, ha sido probada en forma extensa y se ha demostrado eficaz. Esto presupone que la luz ultravioleta está funcionando eficazmente. Por consiguiente, los controles son muy importantes en la producción de la vacuna. Con beta-propiolactona se introduce una sustancia que parece estar dando buenos resultados con otras vacunas. Pero debe ser usada en forma adecuada, recién preparada y mantenida en frío. Las pruebas de potencia y seguridad son esenciales en cualquier vacuna, especialmente si se varía el procedimiento estándar.

DR. BOHL — Nosotros en el Perú tenemos una cierta experiencia con la producción de vacuna del Dr. Fuenzalida. Iniciamos nuestra producción a partir de 1961-62, pero primeramente en forma experimental, para hacer pruebas comparativas con la vacuna tipo Semple que usábamos anteriormente. A partir de 1963 iniciamos la producción, pero no en forma total debido fundamentalmente a no tener un bioterio suficientemente grande como para cambiar el sistema de vacuna. Iniciamos la producción en forma paulatina, y a partir de 1964-65 cambiamos completamente de vacuna. El promedio de producción en nuestro país es de aproximadamente 200.000 dosis y en unas 20.000 personas tratadas con la vacuna del Dr. Fuenzalida se ha presentado un solo caso de rabia en una persona mordida en la cabeza y que inició el tratamiento 6 días después de la exposición. Igualmente, se ha presentado un caso de accidente postvacunal, que no se puede atribuir definitivamente a la vacuna debido a que, en ese caso, no seguimos estrictamente la técnica descrita por el Dr. Fuenzalida e inoculamos ratones de mayor edad. En resumen, yo creo que esta vacuna tiene 3 ventajas fundamentales: desde el punto de vista

económico, es mucho más barata que la de tipo conejo; alto título de protección; y disminución considerable de las reacciones postvacunales. Sin embargo, una de las cosas que más nos ha llamado la atención, especialmente a mí, es que no se hayan mencionado los trabajos del Dr. Fuenzalida en el 5º Informe del Comité de Expertos en Rabia de la OMS, a pesar de que sabemos los grandes resultados obtenidos e inclusive se menciona esta vacuna en los trabajos rusos sobre la vacuna preparada en ratas.

DR. LOURES — En el Instituto Oswaldo Cruz hemos preparado la vacuna Fuenzalida desde 1964, 210.000 dosis hasta el momento. No hemos recibido absolutamente ninguna notificación respecto a reacciones nerviosas. El Instituto de Prevención de la Rabia de Río de Janeiro está empleando vacuna Fuenzalida de otro origen; en 34.500 personas tratadas fueron observados 4 casos con complicaciones, que se curaron después de ser tratados. Ningún caso de muerte se verificó en personas tratadas. Nosotros preparamos la vacuna por el método clásico y recibimos un reclamo por coloración debida a la sangre en el sistema nervioso. Por ese motivo, después de la muerte de los ratones los colocamos a -20° durante 2 ó 3 horas, eliminando totalmente la sangre existente.

DR. ALVAREZ — Desde 1958, año en que comenzamos a utilizar esta vacuna, hemos podido observar la reducción notable de rabia. Hay zonas, como la provincia de Valparaíso, vacunadas exhaustivamente, donde el impacto hecho por la vacunación de perros ha sido mucho más notable que en Santiago. En Valparaíso podríamos decir que desde hace casi un año no tenemos ningún caso de rabia; además no hay accidentes neurológicos en personas tratadas. El total de tratamientos efectuados con esta vacuna me parece que es cercano ya a los 100.000 sin ningún fracaso.

DR. LOPEZ — En una parte de su informe, el Dr. Fuenzalida alude a 7 accidentes neurológicos ocurridos en Venezuela en el primer semestre de este año en una masa de 5.000 vacunados. Como ésta no era la experiencia habitual del país —con la Semple teníamos 1 accidente cada 5.000 personas tratadas— la investigación ha puesto de relieve lo que decía el Dr. Kaplan sobre el transferir una tecnología de un país a otro sin seguirse estrictamente las normas técnicas. Aquí vale el caso de la beta-propiolactona u otras modificaciones que puedan hacerse con peligro de acarrear consecuencias insospechadas. En este caso, sobre cada 700 vacunados hubo un accidente neurológico y murieron 2 personas. Yo pienso que no hubo, como en otros lugares, tal vez la oportunidad de un período experimental previo, y aquí cabe una advertencia para los fabricantes de vacuna. Se estaba produciendo un lote y medio mensual, lo cual yo creo que traba gravemente la posibilidad de hacer pruebas de potencia e inocuidad en la forma correcta.

DR. FUENZALIDA — Me tocó actuar en el problema de Venezuela, porque nos alarmó a todos, especialmente debido a que habíamos tenido antecedentes muy favorables en el resto de los países. Como bien dice el Dr. López, fue una medida apresurada el cambiar la vacuna que hacían anteriormente por otra que no ensayaron antes. Pero lo que más llama la atención es que se trabajó con esta vacuna durante casi un año sin tener ningún problema, y cuando aumentó la denuncia de rabia en Venezuela también el Instituto donde se elaboraba debió proporcionar más vacuna. Por ese apremio comenzaron a utilizar ratones de más edad. Es preferible comprar vacuna en otra parte.

DR. KAPLAN — Quisiera señalar que los centros de referencia para la rabia son gustosos de recibir una cantidad limitada de vacuna para realizar la prueba de potencia.

DR. STEELE — Con respecto al incidente de Venezuela, ¿eran accidentes vacunales o rabia?

DR. FUENZALIDA — Primero quiero decir que la situación que hubo en Venezuela fue de orden técnico y ya superada. No se trataba de encefalitis alérgica clásica, sino de una polirradículo neuritis; inclusive en las personas que murieron no pudieron encontrarse las lesiones características. Esto sucedió a raíz de usarse animales de más edad y, lo que es más grave, una de las vacunas más usadas, la 46, que afectó a 5 personas, fue examinada en el Centro Panamericano de Zoonosis después de 6 meses de preparación y contenía virus fijo.

DR. RENATO DA SILVA — Como en Brasil algunos laboratorios privados están preparando la vacuna Fuenzalida para uso en animales, quisiera preguntar al Dr. Fuenzalida acerca de sus experiencias en bovinos y en perros, y cuál es la dosis que aconsejaría para uso en bovinos, la concentración de tejidos que deberíamos usar en la vacuna para estos animales, y el tiempo de inmunización que la vacuna confiere, principalmente en el perro.

DR. FUENZALIDA — La vacuna está ampliamente experimentada en el campo para la inmunización de perros, como lo prueban los dos programas de control más grandes que se han hecho en América del Sur, en Chile y en Uruguay, con buenos resultados. La vacuna que se ha usado en todos estos casos contiene 50 mg/dosis de tejido nervioso. Es decir, una vacuna al 1 %. En Chile se ha vacunado con 5 cm³ de vacuna 1 % y en Uruguay con 2 cm³ al 2,5 %. En cuanto a experiencias con bovinos, sólo puedo señalar que hemos trabajado en Chile con el Dr. Fábrega, y luego acá en el Centro, en un orden experimental, utilizándose la vacuna en algunas zonas de Argentina para el uso en esa especie. Sin embargo, yo no me atrevería todavía a establecer la forma en que debe ser usada la vacuna, aunque adelante que hay una diferencia enorme considerando los anticuerpos que produce la vacuna cuando se la aplica con adyuvantes, especial-

mente hidróxido de aluminio. Tengo también referencias de un trabajo que se ha hecho últimamente en Colombia usando adyuvantes de arlachel y bayol, obteniéndose resultados aún mejores que con hidróxido de aluminio. Pero esto debe aún experimentarse.

DR. VILCHES — Nuestra producción de vacuna humana CRL es de 450.000 dosis anuales. En cuanto a la vacuna para uso canino, sólo hemos producido hasta ahora 35.000 dosis. Todas nuestras pruebas se hacen siempre por partidas no menores de 50.000 dosis, con el fin de reducir riesgos inherentes a partidas pequeñas, y los resultados nunca han sido inferiores a 1.000.000 DL por el método de Habel.

DR. FUENZALIDA — Uno de los factores que más inciden en la provocación de reacciones en las personas tratadas con varias dosis de vacuna es el contenido de gérmenes muertos que pueda tener la vacuna. Por esta razón, el proceso de preparación de vacuna para uso humano debe realizarse en un lugar cerrado con el objeto de evitar cualquier contaminación; además, deben controlarse las suspensiones antes de irradiar, para usar el material lo menos contaminado posible. Esto puede obtenerse fácilmente con una técnica cuidadosa realizada en un laboratorio pequeño pero apropiado, que tenga las instalaciones adecuadas.

VACUNAS ANTIRRABICAS PRODUCIDAS EN CULTIVO DE TEJIDOS

M. K. ABELSETH *

Introducción

A pesar de que ya desde 1913 se había intentado propagar el virus rábico en cultivos celulares con distintos grados de éxito ¹, el primer trabajo de importancia fue el de Kissling ² en 1958. Cultivando la cepa CVS en células primarias de riñón de hamster obtuvo títulos de $10^{3.5}$ DL₅₀ en ratones.

Desde entonces, muchos investigadores han notificado el crecimiento de virus rábico fijo y calle en cultivos celulares, tanto primarios como de líneas continuas, a partir de una variedad de tejidos ³⁻¹¹. Las cepas fijas parecieran adaptarse más fácilmente a los cultivos tisulares que las de virus calle. En general, no se produce un efecto citopatogénico real. Estudiando la cepa ERA en células de riñón de cerdo, he observado que se presenta una degeneración crónica de las células. Fernádes y col. ⁸ se refieren a cambios similares como a un "mecanismo citopático indirecto", debido al cual no pueden efectuarse pasajes continuos de células infectadas, pues grandes masas antigénicas interfieren con la mitosis. La técnica de anticuerpos fluorescentes es muy útil para estudiar el virus rábico en cultivos celulares. Algunas células parecen estar completamente llenas de antígeno, y sería posible que éste interfiriera con el metabolismo celular, explicando la razón de la degeneración de las células.

Aunque había buenas vacunas antirrábicas (especialmente para perros) como la Flury de bajo pasaje (LEP) ¹², era lógico que se probara el virus rábico propagado en cultivos tisulares para la producción de vacunas.

Fenje ¹³ fue el primero en notificar el uso de una vacuna antirrábica preparada en cultivo de tejido. Empleó una cepa de virus fijo cultivada en células de riñón de hamster, e inactivada con formalina antes de ser usada. Ott y Heyke ¹⁴, en 1962, prepararon una vacuna inactivada con fenol, usando CVS propagado en las mismas células. La venta de esta vacuna está autorizada en los Estados Unidos y nos ocuparemos de ella más adelante. Kissling y Reese ¹⁵, en 1963, usaron el mismo sistema para preparar una vacuna inactivada con desoxicolato de sodio.

Una de las primeras vacunas antirrábicas atenuadas preparadas en cultivo de tejido, fue la notificada por Abelseth ¹⁶ y será discutida más tarde. Cabasso y col. ¹⁷, en 1965, cultivaron la cepa Flury LEP en cultivo de tejido de embrión de pollo; estos cultivos sirvieron para inmunizar perros. Emery y col. ²⁴ notificaron que habían inmunizado con éxito perros y cobayos, usando una dosis de un ml. del mismo

* Assistant Director, Laboratories for Veterinary Science, Department of Health, State of New York, Albany, New York, Estados Unidos.

virus propagado en el mismo sistema. Wiktor y Koprowski¹⁸ han inmunizado monos en forma eficaz con una vacuna preparada con Flury HEP en la cepa WI-38 de células diploideas humanas.

Diversas vacunas antirrábicas originadas en cultivos tisulares han obtenido permiso para ser vendidas en los Estados Unidos. En el Cuadro I presentamos un resumen de las características generales de cada una.

Es evidente que el virus rábico se multiplica en diversos tipos de sistemas celulares, y que el virus así propagado puede ser útil como vacuna inactivada o como vacuna a virus vivo modificado. Actualmente, la única vacuna preparada en células que no son primarias es la de los Laboratorios Norden¹⁹, para la que se usan células de riñón de perro de línea continua. La producción de vacunas con células de línea continua ha sido discutida intensamente, debido al factor carcinogénico. A pesar de ello, estas células tienen ciertas ventajas: su ciclo de crecimiento es constante y tienen menos probabilidades de contener contaminantes desconocidos.

Los informes sobre experiencias realizadas con las vacunas enumeradas indican la capacidad para producir inmunidad de varias cepas. Se encuentran entre ellas las bien conocidas cepas Flury, alto y bajo pasaje, CVS y ERA.

Puesto que estuve involucrado en el desarrollo de la vacuna ERA, estoy más familiarizado con sus características y deseo presentarla más detalladamente. Es posible que puedan encontrarse otras vacunas con las mismas aptitudes. Además, la importancia de la rabia bovina en esta parte del mundo hace que el trabajo experimental con ERA en esta especie sea de especial interés.

La información sobre el origen de la cepa ERA ya ha sido publicada^{20,16}. Fue aislada de un perro rabioso, mantenida durante años por pasaje en ratones adultos, adaptada a cultivo de tejido de riñón de hamster³, pasada 10 veces en embriones de pollo, y adaptada luego a cultivo de tejido de riñón de cerdo. La virulencia de esta cepa para ratones adultos es similar a la de LEP. Ocasionalmente muere algún cobayo después de inoculación intramuscular, y la cepa retiene algo de su virulencia para perros y bovinos cuando se la inocula por vía intracerebral. A pesar de ello ha sido avirulenta en todas las pruebas de inoculación en el laboratorio y no ha habido notificación de virulencia en el uso de campo, donde se han vacunado más de 200.000 bovinos y animales de otras especies.

La inmunidad a la confrontación se ha comprobado de uno a tres meses después de la vacunación, así como después de 2 años para perros y caballos y de 3 años para bovinos²¹.

La mayoría de los estudios se han llevado a cabo usando virus calle aislado de zorros como cepa de confrontación. A los fines de comparar esa cepa con la más comúnmente usada, NYC-Georgia, se llevó a cabo la experiencia resumida en el Cuadro II.

CUADRO I
 Vacunas antirrábicas originadas en cultivo de tejido

COMPANIA	VACUNA	SISTEMA CELULAR	CEPA DE VIRUS	ATENUADA O INACTIVADA	RECOMENDADA PARA	DOSIS	DURACION DE LA INMUNIDAD
Fort Dodge	BarRab	Hamster		Inactivada	Perros y gatos	1-2 ml.	2 años
Fromm	Rabvac	Hamster	CVS	Inactivada	Todos los animales	3-50 ml.	1 año
Fromm	Raboid	Hamster	LEP	Atenuada	Perros	2 ml.	No determinada
Jensen-Salsbery (Connaught)		Cerdo	ERA	Atenuada	Todos los animales	2 ml.	2-4 años
Norden	ENDURALL-R	Riñón de perro (línea celular)	HEP	Atenuada	Perros, gatos, bovinos	1-2 ml.	No determinada
DOW		Embrión de pollo	LEP	Atenuada	Perros	1 ml.	
Lederle		Embrión de pollo	LEP	Atenuada	Perros		3 años

CUADRO II

**Vacunación de perros con vacuna ERA
Confrontación con cepas NYC y de zorro**

CEPA DE CONFRONTACION	SOBREVIVIENTES A LA CONFRONTACION		
	Vacunados	Controles contacto	Controles no-contacto
NYC	14/14	0/3	0/4
Zorro	14/14	0/4	1/4

Dosis de confrontación: NYC $10^{3.69}$ DL₅₀ en ratones /0.6 ml.

Cepa de zorro $10^{6.2}$ DL₅₀ en ratones /2 ml.

Intervalo entre la vacunación y la confrontación: 3 meses.

En los estudios de confrontación en perros, el sitio de inoculación usado más comunmente son los músculos maseteros. La confrontación a la inmunidad conferida por ERA se ha probado principalmente por inoculación en los músculos del muslo. Para comparar estas dos vías de inoculación se realizó un estudio cuyos resultados figuran en el Cuadro III.

Considerando que la rabia en bovinos es un serio problema en muchos países, se realizaron estudios extensivos con esa especie. Bovinos inoculados con una dosis de vacuna sobreviven la confrontación a los 10, 18, 24 y 36 meses después; todos los controles murieron.

CUADRO III

**Comparación de las vías de confrontación en perros
vacunados con vacuna ERA**

VACUNA	VIA DE CONFRONTACION	Promedio de días entre la confrontación y la muerte	SOBREVIVIENTES
ERA	maseteros	22	33/34
ERA	pata trasera	—	35/35
Control	maseteros	13.6	0/8
Control	pata trasera	18.5	0/8

Dosis de vacuna: 2 ml.

Dosis de confrontación: Virus de zorro $10^{6.4}$ DL₅₀ en ratones/2 ml.

Edad de los perros: 3 meses.

En Venezuela se llevó a cabo una experiencia con la cooperación del Dr. Palacios, del Centro de Investigaciones Veterinarias de Maracay. Los resultados obtenidos figuran en el Cuadro IV.

CUADRO IV

**Vacunación de bovinos en Venezuela
con vacuna ERA y HEP
Confrontación con cepas 6818 y de zorro**

CEPAS DE CONFRONTACION	SOBREVIVIENTES A LA CONFRONTACION		
	HEP	ERA	Controles
6818 *	7/9	8/10	2/5
Zorros **	7/10	10/10	0/5

* Cepa local de bovino de Venezuela.

** De zorros de Canadá.

Edad de los bovinos: aproximadamente 2 años.

En Canadá se realizó otra evaluación de la vacuna ERA en bovinos contra la confrontación con virus aislado de murciélago, en una prueba controlada de laboratorio. De 20 bovinos vacunados, 10 recibieron una dosis de refuerzo un mes más tarde. La mitad de cada grupo fue confrontada con una cepa aislada de zorros; la otra mitad se confrontó con una cepa aislada de murciélagos, obtenida por gentileza del Dr. Baer. Esta última cepa se cosechó de murciélagos inoculados con virus de una vaca que había muerto de rabia en México. Los resultados se muestran en el Cuadro V.

CUADRO V

**Bovinos vacunados con vacuna ERA
Confrontación con cepas de murciélagos y zorros**

VACUNACION	SOBREVIVIENTES A LA CONFRONTACION	
	Cepa de murciélagos	Cepa de zorros
1 dosis	5/5	5/5
2 dosis *	5/5	4/5
Controles	1/5	0/5

* Segunda vacunación, un mes después de la primera.

Edad de los bovinos: 6-8 meses.

Confrontación: grupo 1 dosis - 44 días después de la vacunación.

grupo 2 dosis - 34 días después de la segunda vacunación.

Características de las vacunas antirrábicas de cultivo de tejido

Dada la pequeña destrucción de las células que ocurre durante la multiplicación del virus rábico, la mayoría de las vacunas que se producen de esta manera están relativamente libres de proteínas ex-

trañas. Las vacunas originadas en embrión de pollo tienen un contenido celular de hasta 33%. Aunque no se ha probado que éste sea un inconveniente serio, se han notificado casos de anafilaxia especialmente en bovinos, especie en la que son necesarias repetidas dosis de vacuna.

Los resultados de experiencias realizadas sugieren que el virus propagado en cultivos de tejidos es más antigénico que el que se produce por otros métodos. En pruebas de protección a perros, Dean y col.²² encuentran que la cepa LEP en cultivos tisulares puede ser diluida hasta 1:64, mientras que las vacunas preparadas con la misma cepa en embrión de pollo pueden diluirse sólo hasta 1:4. Se determinó que la dilución media eficaz para vacuna de embrión de pollo es 72 y 322 para la vacuna de cultivo de tejido. Cabasso¹⁷ determinó que se necesitaban 73.000 DL₅₀ en ratones de virus LEP en embrión de pollo para inmunizar, mientras que solamente 350 DL₅₀ en ratones de la misma cepa en cultivo de tejido fueron suficientes para proteger un perro contra la confrontación. Emery y col.²⁴ obtuvieron en perros y cobayos resultados serológicos y de confrontación comparables para las vacunas LEP originadas en embrión de pollo y en cultivo de tejido de embrión de pollo, a pesar de que, en esta última vacuna, el título de virus fue menor.

En estudios comparativos de vacunas LEP, HEP y ERA en perros, realizados en los Laboratorios Connaught, la vacuna de cultivo de tejido confirió una protección superior, según se determinó por confrontación²¹ (Cuadros VI y VII).

CUADRO VI

Capacidad inmunizante de las vacunas ERA, LEP y HEP en perros (Ensayo I)

VACUNAS		RELACION DE SOBREVIVIENTES EN DIFERENTES DILUCIONES DE VACUNA					DP ₅₀ **
Tipo	Título en ratones	Nº dil.	1/10	1/100	1/1.000	1/10.000	
ERA	103,48	8/8	8/8	8/8	5/8	6/8	104.
LEP	103,58	6/8	5/8	3/8	5/8	4/8	102,47
HEP	105,0*	6/8	2/8	3/8	5/8	3/8	101,75
Controles				2/15			

* Lactantes.

** Dosis protectora 50/2ml.

Dosis de vacuna: 2 ml.

Dosis de confrontación: cepa de zorro 105,6 DL₅₀ en ratones/2 ml.

Intervalo entre la vacunación y la confrontación: 51 días.

CUADRO VII

**Capacidad inmunizante de las vacunas ERA, LEP y HEP
en perros (Ensayo II)**

VACUNAS		RELACION DE SOBREVIVIENTES EN DIFERENTES DILUCIONES DE VACUNA					DP ₅₀ **
Tipo	Título en ratones	Nº dil.	1/10	1/100	1/1.000	1/10.000	
ERA	102.24	7/7	6/7	7/7	4/6	2/6	103.38
LEP	103.2	4/7	1/7	2/7	2/7	0/7	101.0
HEP	104.35*	7/7	5/7	1/7	3/7	0/5	101.65
Controles				3/15			

* Lactantes.

** Dosis protectora, 50/2ml.

Dosis de vacuna: 2 ml.

Dosis de confrontación: cepa de zorro 10⁶ DL₅₀ en ratones/2 ml.

Intervalo entre la vacunación y la confrontación: 49 días.

Los estudios llevados a cabo para determinar la inmunidad potencial de vacunas antirrábicas de cultivo de tejido, usando el cobayo como animal de prueba, son de gran importancia. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos requiere que se efectúe una prueba de potencia en cobayos²³ para cada lote de vacuna antirrábica de embrión de pollo que se coloque a la venta en el país.

Algunas vacunas de cultivo de tejido disponibles comercialmente cumplen los requisitos de esa prueba. Sin embargo, Cabasso¹⁷ tuvo dificultades con la cepa LEP propagada en fibroblastos de embrión de pollo. A pesar de ser la vacuna completamente efectiva para inmunizar perros, no pasó las condiciones mínimas de la prueba en cobayos. Lo mismo les sucedió a Dean y col.²². Pareciera que, a pesar de que los cobayos son más susceptibles a las vacunas de cultivo de tejido que los perros, son más difíciles de inmunizar.

La estandarización de las especificaciones para aprobación de las vacunas es naturalmente importante y necesaria. Sin embargo, debe tenerse presente que el criterio más importante para una vacuna es que sea inocua y eficaz en la especie para la que se la prepara. Hay considerable evidencia de que una respuesta de anticuerpos en un animal, aún siendo baja, protegerá al animal cuando la inmunidad sea confrontada^{16,17,22}. En los mismos estudios, perros vacunados pero sin anticuerpos detectables sobrevivieron en algunos casos la confrontación, mientras que animales no vacunados, sin anticuerpos, generalmente murieron al ser confrontados. En nuestro trabajo con bovinos y otros animales hemos obtenido resultados similares. Dean²² ha sugerido que esto podría deberse a que los métodos usados actualmente para detectar anticuerpos son inadecuados.

Resumen

La capacidad del virus rábico de crecer en cultivos de tejidos ha dado como resultado la posibilidad de disponer de diversas vacunas para la inmunización de animales. Los resultados experimentales obtenidos con esos productos son amplios. En general, los resultados indican una excepcional capacidad inmunogénica, con un amplio margen de seguridad. Solamente queda por demostrar la eficacia de esos productos en el campo, como se ha hecho adecuadamente con la cepa Flury.

REFERENCIAS

- ¹ Levaditi, C. Virus rabique et culture des cellules in vitro. *C. R. Soc. Biol.*, 75: 505, 1913.
- ² Kissling, R. E. Growth of rabies virus in non-nervous tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 98: 223, 1958.
- ³ Fenje, P. Propagation of rabies virus in cultures of hamster kidney cells. *Can. J. Microbiol.*, 6: 479, 1960.
- ⁴ Kaplan, M. M.; Forsek, Z.; Koprowski, H. Demonstration of rabies virus in tissue culture with fluorescent antibody technique. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 22: 434, 1960.
- ⁵ Kaplan, M. M.; Wecker, E.; Koprowski, H. An indicator plaque-forming system for demonstration of interference by non-cytocidal strains of rabies virus. *Nature*, 186: 821, 1960.
- ⁶ Davies, M. C.; Englert, M. E.; Sharpless, G. R.; Cabasso, V. J. The electron microscopy of rabies virus in cultures of chicken embryo tissues. *Virology*, 21: 642, 1963.
- ⁷ Fernández, M. V.; Wiktor, T. J.; Koprowski, H. Mechanism of the cytopathic effect on rabies virus in tissue culture. *Virology*, 21: 128, 1963.
- ⁸ Fernandes, M. V.; Wiktor, T. J.; Koprowski, H. Endosymbiotic relationship between animal viruses and host cells. A study of rabies virus in tissue culture. *J. exp. Med.*, 120: 1099, 1964.
- ⁹ Wiktor, T. J.; Fernandes, M. V.; Koprowski, H. Cultivation of rabies virus in human diploid cell strain WI-38. *J. Immunol.*, 93: 353, 1964.
- ¹⁰ Depoux, R. Infection des cellules de glande sousmaxillaire de chien, cultivées in vitro par un virus rabique fixe. *Can. J. Microbiol.*, 10: 527, 1964.
- ¹¹ Depoux, R. Etude du virus rabique fixe cultivé sur diverses cellules d'origine canine (souche Louis Pasteur). Extrait des *Annales de l'Institut Pasteur*, 108: 566, 1965.
- ¹² Koprowski, H.; Cox, H. R. Studies on chick embryo adapted rabies virus. I. Culture characteristics and pathogenicity. *J. Immunol.*, 60: 533, 1948.
- ¹³ Fenje, P. A rabies vaccine from hamster kidney tissue culture; preparation and evaluation in animals. *Can. J. Microbiol.*, 6: 605, 1960.
- ¹⁴ Ott, G. L.; Hoyke, B. Preliminary trials of a new tissue culture rabies vaccine. *Vet. Med.*, 57: 158, 1962.
- ¹⁵ Kissling, R. E.; Reese, D. R. Anti-rabies vaccine of tissue culture origin. *J. Immunol.*, 91: 362, 1963.
- ¹⁶ Abelseth, M. K. An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. *Can. Vet. J.*, 5: 279, 1964.

¹⁷ Cabasso, V. J.; Stebbins, M. R.; Douglas, A.; Sharpless, G. R. Tissue culture rabies vaccine (Flury LEP) in dogs. *Amer. J. vet. Res.*, 26: 24, 1965.

¹⁸ Wiktor, T. J.; Koprowski, H. Successful immunization of primates with rabies vaccines prepared in human diploid cell strain WI-38. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 118: 1069, 1965.

¹⁹ Jensen, E. M.; Force, E. E.; Unger, J. B. Inhibitory effect of ammonium ions on influenza virus in tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 107: 447, 1961.

²⁰ Abelseth, M. K. Propagation of rabies virus in pig kidney cell culture. *Can. vet. J.*, 5: 4, 1964.

²¹ Abelseth, M. K. En prensa.

²² Dean, D. J.; Evans, W. M.; Thompson, W. R. Studies on the low egg passage Flury strain of modified live rabies virus produced in embryonating chicken eggs and tissue culture. *Amer. J. vet. Res.*, 25: 756, 1964.

²³ U. S. Department of Agriculture, Animal Inspection and Quarantine Division, Agricultural Research Service. Standard requirements for rabies vaccine modified live virus, chick embryo origin, vacuum dried. NOV-11, ARS, USDA, Nov. 3, 1961.

²⁴ Emery, J. B.; Elliot, A. Y.; Bordt, D. E.; Burtch, G. R.; Dugel, E. A. Tissue culture, live modified rabies vaccine for dogs - report on developmental and clinical trial. (En prensa).

Comentarios

DR. HABEL.—Los investigadores que están empleando sistemas de cultivo de tejido para la rabia han demostrado el potencial que encierra este método. La ventaja obvia es que la célula en la cual se multiplica el virus puede ser manipulada y cambiada consiguiéndose un control más preciso del virus. El virólogo puede manipular y modificar el virus más fácilmente. Hay que recordar que en cada cultivo existen mutantes del virus que pueden ser seleccionadas más fácilmente. Una desventaja del cultivo de tejido como fuente de virus para la preparación de vacunas es la producción relativamente baja de virus en comparación con la multiplicación obtenida en los cerebros de animales infectados. Hasta el presente, ningún sistema de cultivo de tejido permite obtener la producción de virus que el Dr. Fuenzalida consigue con los cerebros de ratones lactantes. Este aspecto no es muy importante cuando se trata de preparar vacunas vivas, pero sí cuando se producen vacunas inactivadas.

Otro problema es el significado del título de un virus rábico determinado. Cuando nosotros multiplicamos el virus en diferentes sistemas celulares o en animales, puede reaccionar en forma diferente y el título obtenido en un laboratorio puede no ser comparable con el obtenido en otro. Nosotros seleccionamos cepas de virus rábico que se multiplican e inmunizan eficazmente. Por consiguiente, no es sorprendente que el virus vivo en la vacuna ERA, que se multiplica bien en cultivo de tejido e inmuniza eficazmente a los perros y a los bovinos, no proteja muy bien a los cobayos en las pruebas de potencia. Esto puede ser debido a que el virus adaptado al sistema ce-

lular ha perdido su habilidad para multiplicarse en cobayos. Por consiguiente, cuando el Dr. Abelseth dice que la vacuna ERA tiene 10^8 dosis infectantes para los ratones y la LEP tiene más de 10^3 , esto no indica necesariamente la cantidad de virus vivo presente en la vacuna. Si el Dr. Abelseth ha realizado titulaciones en cultivo de tejido empleando la técnica AF pudo haber encontrado que esas vacunas tenían mucho más virus que el indicado por la prueba de titulación en ratones. De manera que es difícil comparar dos vacunas sobre la base de la titulación solamente. La técnica de cultivo de tejido parece ser el método del futuro debido al control del sistema y a la posibilidad de mayor estandarización.

DR. WIKTOR — Con respecto a las vacunas para uso bovino, sabemos que la HEP, preparada en condiciones adecuadas, da buenos resultados. Sin embargo, muchas vacunas de tipo HEP no son preparadas en condiciones ideales y fallan. Si se desarrolla una vacuna de cultivo de tejido y se prueba su eficacia, puede centralizarse la producción, como dijo el Dr. Acha, para toda una zona, ya que se necesitarán anualmente unos 100 millones de dosis. Es evidente que con las vacunas de cultivo de tejido, que son mucho más difíciles de preparar y controlar, la producción debe ser concentrada en un centro, quizás bajo una organización internacional.

La mayoría de las vacunas para uso humano son actualmente originadas en huevo o en tejido nervioso. Necesitaríamos una vacuna mejor y la única oportunidad estaría en el cultivo de tejido. Nosotros hemos estado trabajando en este asunto y tenemos 2 problemas a resolver: uno es conseguir un título de virus suficientemente alto en cultivo de tejido, y el otro determinar el tipo de células más conveniente. Las células primarias de riñón de mono se utilizan para la producción de vacunas antipoliomielíticas, pero estas células pueden contener virus peligrosos para el hombre. Recientemente en Europa varias personas que trabajaban con células de riñón de mono se enfermaron y murieron. La mejor solución parece ser el uso de células de línea continua. Por esta razón hemos estado trabajando con la línea de células diploideas humanas, originadas de embrión humano. Son células normales, no producen cáncer y no contienen virus o bacterias. Lamentablemente, el virus rábico no se multiplica tan bien en ellas como en las de riñón de hamster.

Sin embargo, en las células diploideas se ha conseguido un título bastante alto como para preparar una vacuna y probarla en monos. El segundo paso ha sido ver si podíamos concentrar y purificar esta vacuna. Las vacunas de cultivo de tejido son más puras que las de tejido cerebral aún sin purificación, pero nosotros purificamos aún más nuestra vacuna y hemos obtenido buenos resultados. Nuestro problema actual es cómo preparar grandes cantidades y definir una vacuna estándar.

DR. JOHNSON — Al hablar de la rabia bovina en Venezuela se demostró que no había diferencias en la protección conseguida por las vacunas HEP y ERA. Otro punto es la posibilidad de que existan diferencias en las cepas de virus rábico de Norte y Sud América. Sin embargo, se demostró que no había diferencias en las cepas, ni antigénicas ni de otro tipo. Los resultados han sido similares en estudios realizados en Malasia y en la India.

Otro punto importante es el largo período de incubación —4 y 7 meses— observado en rabia bovina transmitida por murciélagos en México. Esto puede ser un factor importante en la protección vacunal.

En las dos experiencias realizadas en perros con diluciones de la vacuna, se emplearon pequeños grupos de animales. Nosotros acostumbrábamos usar pequeños grupos de animales (7-10) y quiero advertirles sobre el peligro de esos pequeños grupos desde el punto de vista estadístico. Por ejemplo, en la experiencia 1, las 3 vacunas dieron resultados similares a la dilución 1:1000, mientras que a las diluciones 1:10 y 1:100 las vacunas LEP y HEP demostraron poca protección. En la segunda experiencia, si las madres habían sido inmunizadas contra la rabia y los anticuerpos pasaron en el calostro, la vacuna pudo no haber protegido debido a la interferencia. Además hubo muertes entre los animales en prueba y aparentemente los signos eran típicos de rabia pero los animales no fueron examinados para la presencia de virus.

Se señaló el caso de una vaca que murió por rabia después de la aplicación de dos dosis de vacuna. En el trabajo que nosotros realizamos, obtuvimos un 100% de protección con dos dosis de vacuna muerta aplicadas con un mes de diferencia, confrontando los animales con virus calle.

Lo principal en una vacuna es su eficacia en el campo. Nosotros tuvimos una experiencia en California en una clínica donde se usó una vacuna LEP y muchos perros se enfermaron y murieron luego de la vacunación. Se encontró que la vacuna contenía gran cantidad de *Pseudomonas*. En esa oportunidad el Dr. Soave aisló virus de hepatitis infecciosa de muchos de los perros que habían muerto. Es posible que la combinación de *Pseudomonas*, vacunación antirrábica y presencia de virus de la hepatitis favoreciera el desarrollo de la enfermedad.

Con respecto a la duración de la inmunidad, la vacunación anual no es ni práctica ni económica. Una vacuna que confiriera protección por más de un año resultaría muy útil. Por ejemplo, la vacuna contra la fiebre amarilla protege durante 5 años. Una duración de 2 ó 3 años sería suficiente, pues la vida media de los perros no es muy larga.

DR. FORREST — En la provincia de Salta se vacunaron 200 animales; estos animales pertenecían a 2 establecimientos distintos. En uno de los establecimientos la parasitación por garrapatas era muy

intensa; en el otro se consiguió reducir el número de garrapatas. Se hizo una previa toma de suero y a los 30 días de la vacunación nuevamente se extrajo suero. En el establecimiento densamente parasitado obtuvimos, 30 días después de aplicada la vacuna ERA, un índice de protección de 12.880 DL₅₀. En el mismo establecimiento se vacunó, simultáneamente, otro lote con vacunas antirrábica y antiaftosa. En este caso, a los 30 días se obtuvo una protección de 10.000 DL₅₀. En el establecimiento donde había poca parasitación, el índice de neutralización de los sueros extraídos a los 30 días de la vacunación fue de 51.280 DL₅₀.

Los resultados de vacunaciones realizadas en la zona de la Pampa húmeda, donde los manejos de pasturas y alimentación y bebidas no significa un problema para el ganado, demuestran generalmente un índice de protección alto obtenido con las vacunas de virus vivo modificado. No sucede lo mismo en la zona que mencionara anteriormente, donde el pasto y el agua son escasos y los animales caminan mucho para obtener su alimento. En estas regiones observamos resultados más pobres en las vacunaciones.

En el Laboratorio de Salta se recibieron 20 sueros de animales vacunados en Bolivia que corresponden a 18 meses después de la aplicación de la vacuna ERA. Los resultados fueron los siguientes: en 4 no hubo protección, en 8 una protección contra 12 DL₅₀, en 4 contra 50 DL₅₀, en 3 contra 100 DL₅₀ y en 1 contra 200 DL₅₀.

DR. PERRITZ — Yo estuve involucrado en la prueba de campo de la vacuna ERA realizada en Bolivia. Con anterioridad se tomaron fotografías para demostrar la ocurrencia de ataques por parte de los murciélagos. En 1966 se vacunaron alrededor de 27.000 bovinos entre 4 y 8 meses de edad con vacuna ERA. Se recogieron muestras del suero de esos animales para realizar el estudio de anticuerpos pero el trabajo de laboratorio aún no ha sido hecho. No hubo reacciones locales o de shock y los criadores se mostraron entusiasmados. Desde 1966, se han usado alrededor de 150.000 dosis de ERA sin ningún accidente Comparando los animales vacunados con los controles, las pérdidas de 30 animales por mes fueron reducidas a 1. Recientemente, de un establecimiento donde vacunaban con ERA remitieron un cerebro que resultó positivo. No se sabe si este animal fue salteado en la vacunación o si representa una falla de la vacuna.

DR. JOHNSON — En un establecimiento con 27.000 bovinos pueden ocurrir muchas muertes sin que nadie lo sepa y los animales pueden morir por muchas causas Puede haber hasta un 5% de muertes. En México hemos visto morir en un día hasta 500 bovinos.

DR. ABELSETH — Una vacuna que fuera eficaz para todas las especies sería una gran ventaja. En el Estado de Nueva York nosotros consideramos una inmunidad de 3 años con vacuna LEP; ade-

más, si un perro ha sido mordido en una zona de rabia por un perro vacunado, este último es dejado en libertad luego de ser revacunado.

Las pruebas de la vacuna en Venezuela han indicado que la vacuna HEP dio resultados comparables a los de ERA según los informes de laboratorio. Yo no soy de la opinión de que todas las fallas son debidas a la mala calidad de las vacunas o a un manejo inadecuado; son realmente fallas de protección de la vacuna. Por cierto que con el uso más amplio de la vacuna ERA también habrá algunas fallas.

Nosotros no tenemos ninguna información sobre la presencia de anticuerpos rábicos en el calostro de las perras usadas en nuestra experiencia y los perros que murieron, murieron por rabia.

DR. FUENZALIDA — Quisiera preguntar al Dr. Abelseth sobre la conveniencia del "booster" después de la primera dosis; el "booster" que se recomienda en algunas publicaciones después de los 30 días.

DR. ABELSETH — En los bovinos y en los perros, que son vacunados muy jóvenes, yo creo que la revacunación al año de edad es muy importante. Nosotros vacunamos algunos terneros, de madres no inmunes, a los 18 días de edad. Los terneros responden a la vacunación pero sus títulos de anticuerpos caen muy rápidamente. Luego responden muy bien a la revacunación.

DR. GREENHALL — Muy a menudo los vampiros muerden a los animales en lugares muy oscuros, debajo de la cola, o entre los cascos, y a menos que uno sepa dónde buscar las lesiones pueden pasar desapercibidas. A menudo, un animal que muere de rabia no presenta ninguna señal de herida porque ya está completamente curada.

DR. DIAZ — En Guatemala, cuando un perro ha sido mordido por otro positivo y los propietarios no quieren eliminarlo, el Juzgado de Sanidad los obliga a mantener el perro amarrado. Nosotros lo vacunamos inmediatamente; luego a la semana aplicamos otra vacuna, y otra al mes. Hasta la fecha, yo he tratado de llevar un registro de esos perros y no ha aparecido ninguno que se enfermara. En el caso de perros que nos llevan para vacunar digamos 15 días después de haber sido mordidos, y a los cuales se les aplican las 3 vacunas, hemos notado que mueren con un período de incubación más corto que el normal.

DR. PETERMANN — Al trabajo extraordinario del Dr. Abelseth, yo quería agregar otra vacuna. Se trata de una vacuna inactivada, liofilizada, y hecha en cultivo de tejido en una línea celular. Este sistema se eligió debido a la situación general en Europa. Francia es un país libre de rabia, pero los países que se encuentran en la frontera este — Bélgica, Luxemburgo, Alemania, Suiza — tienen rabia la cual, como se sabe, no va a tardar mucho en entrar en nuestro país. Por razones de política de sanidad animal, se pensó que sería mejor tra-

bajar con vacuna inactivada y, por esa razón, hemos empezado nuestro trabajo basándonos en las investigaciones de los Dres. Koprowski y Wiktor. Utilizamos virus fijo, adaptado en el Instituto Wistar a células diploideas humanas, y que nosotros hemos adaptado en Lyon a una línea celular que se llama Nil 2, que también ha sido preparada por el Dr. Diamond en el Instituto Wistar. En nuestros cultivos obtenemos títulos de $10^{7.6}$ - $10^{8.3}$ por ml. El virus es inactivado por beta-propiolactona, filtrado —es decir, que es absolutamente estéril— y liofilizado porque hemos observado que la liofilización permite que esta vacuna quede 8 días en estufa a 37°C sin que el título varíe.

Esta vacuna, que no provoca reacciones, ha sido en principio preparada para uso en perros y gatos, porque son los animales que primero se van a vacunar en Francia. Los títulos de anticuerpos que hemos obtenido han sido los siguientes: después de una sola inyección de 2 ml. obtuvimos un título de anticuerpos de más de 1:100 y con una dosis "booster" un mes más tarde, el título era de 1:1000. Con la vacuna diluida al 10, el título ha sido de 1:40 y con una dilución al 100, de 1:4.

Por supuesto, hemos vacunado también bovinos, pero en este aspecto estamos recién en los comienzos. Los primeros resultados obtenidos nos indican que con una dosis de vacuna con adyuvante de hidróxido de aluminio —adyuvante oleoso— los títulos de anticuerpos son de 1:125 y si se aplica una dosis "booster" el título es de 1:1125.

VACUNA ANTIRRABICA PURIFICADA

G. P. LARGHI *

Toda vez que se hace referencia a las vacunas antirrábicas, debe repetirse el concepto vertido por el Dr. Habel en la reunión de ayer. Esta vacuna es el producto biológico que se inocular al ser humano conteniendo mayor cantidad de sustancias contaminantes ajenas al antígeno específico.

Las vacunas preparadas con tejido nervioso de animales adultos, como las de tipo Semple y Fermi, a pesar de ser las que más se usan mundialmente, poseen el factor encefalitogénico que produce reacciones neurológicas en algunas de las personas vacunadas. La incidencia de estas reacciones varía desde 1 caso en 527¹ hasta 1 en 8500². Entre los años 1961 y 1963, antes de que empezara a usarse la vacuna Fuenzalida-Palacios, en el Gran Buenos Aires se produjo un promedio de una muerte debida a accidente postvacunal por cada 2.000 personas vacunadas³.

La vacuna de embrión de pato es la que más se usa en los Estados Unidos. Su potencia es generalmente menor que la de las preparadas en tejido nervioso⁴, pero produce anticuerpos en las personas vacunadas más rápidamente que estas últimas. La vacuna de embrión de pato no produce experimentalmente reacciones neurológicas dado que posee muy poco tejido nervioso. Sin embargo, hasta el 25 % de las personas vacunadas con ella tienen reacciones locales y algunas tienen reacciones sistémicas^{5,6}.

En los últimos doce años se ha estado utilizando tejido nervioso de animales lactantes para la preparación de vacunas antirrábicas. Estas son las descritas por Fuenzalida y Palacios⁷, Svet-Moldavsky y col.⁸, Gispén y col.⁹. Dado que los animales lactantes no desarrollan el factor encefalitogénico hasta cierta edad, las vacunas preparadas con sus tejidos nerviosos no producen reacciones neuroparalíticas postvacunales.

Refiriéndonos específicamente a la vacuna de cerebro de ratón lactante, que es la que más se usa en América latina, podemos decir que aproximadamente 93.000 personas han sido tratadas con ella y, hasta el momento, no se conoce ningún caso de accidente postvacunal; se producen sí reacciones localizadas en el sitio de la inoculación, con algunas reacciones generalizadas¹⁰.

Usando la técnica descrita por Thomas y col.¹¹ con algunas modificaciones, hemos preparado una vacuna antirrábica purificada (VAP) por centrifugación y cromatografía en Ecteola-celulosa. Se usó el virus estándar de confrontación CVS propagado en cerebro de ratón lactante, y el producto final fue inactivado con beta-propiolactona.

* Centro Panamericano de Zoonosis, Oficina Sanitaria Panamericana, Casilla 23, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina.

Esta VAP fue comparada con las dos vacunas antirrábicas que se producen en los Estados Unidos, la vacuna de embrión de pato (VEP) y la vacuna tipo Semple (VTN)¹².

La VAP tuvo 60 veces menos fosfolípidos que la VEP y 350 veces menos que la VTN. También tuvo 30 veces menos nitrógeno que la primera y 40 veces menos que la segunda.

En las pruebas de laboratorio para determinar la presencia del factor encefalitogénico en esas tres vacunas, solamente la VTN demostró poseerlo.

En las pruebas de potencia de Habel y del NIH, la VAP fue más potente que las otras dos en ambas pruebas y tan potente como la de referencia en la prueba del NIH. Ese lote de VAP liofilizada y conservada a 4°C durante más de un año, todavía cumple con las pruebas de potencia.

Grupos de cobayos vacunados con 14 medias dosis humanas de cada vacuna, fueron sangrados periódicamente para determinar la curva de anticuerpos producidos por cada vacuna. Otros grupos de cobayos inmunizados de la misma manera fueron confrontados a los 15, 60 y 90 días después de la primera dosis de vacuna. La VAP produjo anticuerpos sero-neutralizantes más rápidamente y con títulos mayores que las otras dos. En las pruebas de confrontación, la protección otorgada por la VAP fue también superior a la conferida por la VEP y la VTN.

Cuatro voluntarios del Laboratorio de Investigaciones sobre Rabia del CDC, Atlanta, Ga., quienes habían tenido inmunización antirrábica previa, recibieron una dosis de 1 ml. de VAP por vía subcutánea. Los cuatro tuvieron un rápido incremento en los títulos sero-neutralizantes una semana después de vacunados, sin haber experimentado reacción de naturaleza alguna.

Considerando que la vacuna Fuenzalida-Palacios (VCRL) es económica y fácil de preparar, mientras que la preparación de la VAP es más complicada, pensamos que sería interesante comparar estas dos vacunas de la misma manera que lo hiciéramos con aquellas preparadas en los Estados Unidos. Suponiendo que las propiedades inmunogénicas de ambas vacunas fueran similares y que la VAP tuviera menor contenido de componentes ajenos al antígeno rábico, el mayor costo y más largo proceso de producción estarían justificados si con ello se lograra evitar toda clase de reacciones en las personas vacunadas.

Los primeros resultados de este estudio están recién completándose. Estos indican que las pruebas de potencia de ambas vacunas son similares. Ambas cumplen con exceso los requisitos mínimos de la prueba de Habel. A pesar de que la VCRL usada tiene un índice de protección en esta prueba ligeramente mayor al de la VAP, no alcanza a tener el valor antigénico mínimo de 0,3 requerido por la prueba de NIH usando la vacuna de referencia lote 173 (Cuadro I).

Las pruebas de sero-neutralización de los sueros obtenidos de los cobayos vacunados hasta 9 días después de la primera dosis de vacuna, muestran títulos semejantes (Cuadro II).

La misma similitud la encontramos en la prueba de confrontación realizada 15 días después de iniciada la vacunación (Cuadro III). La confrontación efectuada 45 días más tarde (el periodo de observación de estos animales aún no ha terminado) muestra una ligera superioridad para la vacuna CRL.

Aunque este estudio aún no está terminado, podemos aventurarnos a afirmar que la VAP es tan o más potente que la mayoría de las vacunas actualmente en uso y que, teóricamente, no debería producir reacciones alérgicas de ningún tipo.

Por otra parte, el Dr. Wiktor nos ha hablado en la primera sesión de este Seminario de otro método físico-químico de purificación del virus rábico con el que ha producido una vacuna de alto título.

Todo pareciera indicar que en un futuro no muy lejano, el temor a la vacunación antirrábica debido a las reacciones locales, generalizadas o neuroparalíticas, será una etapa superada para este producto biológico que se emplea desde hace casi un siglo.

CUADRO I

Pruebas de potencia de dos vacunas

Vacunas	Habel DL ₅₀ protección	NIH *	
		DE ₅₀ **	Valor antigénico
VCRL	3.200.000	17	0.21
VAP	780.000	29	0.36
Ref. 173	—	80	1.00

* Dosis de confrontación 10 DL₅₀.

** Recíproca de dilución protegiendo 50% de los ratones.

CUADRO II

Mediana y rango de los títulos de seroneutralización *

Vacuna	Días después de la primera dosis de vacuna				
	0	1	3	5	9
VCRL	< 2	< 2	< 2	55 (25-67)	1062 (125-3125)
VAP	< 2	< 2	< 2	55 (11-237)	1937 (> 125-15625)

* Recíproca del título.

CUADRO III
Prueba de confrontación de cobayos *

Vacuna	Días después de la primera dosis de vacuna	
	15	60
VCRL	0/10**	1/10
VAP	0/10	2/7
Controles	10/10	10/10

* 0,3 ml. de CVS al 10%, vía IM.

** Muertos/confrontados.

REFERENCIAS

- ¹ Cook, E. B. M. y col. *Tex. Rep. Biol. Med.*, 13: 234, 1955.
- ² McKendrick, A. G. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 9: 158, 1940.
- ³ Barbuto, S.; Blaksley, J. Dirección de Enfermedades Transmisibles, Secretaría de Salud Pública, Argentina. Comunicación personal.
- ⁴ Dean, D. J.; Sherman, I. *Publ. Hlth. Rep. (Wash.)*, 77: 705, 1962.
- ⁵ Prussin, G.; Katabi, G. *Ann. int. Med.*, 60: 1, 1964.
- ⁶ Peck, F. B.; Kohlstaed, K. C. *Ind. Med. Surg.*, 33: 1, 1964.
- ⁷ Fuenzalida, E.; Palacios, R. *Bol. Inst. Bact. Chile*, 8: 3, 1955.
- ⁸ Svet-Moldavsky, G. y col. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 32: 47, 1965.
- ⁹ Gispen, R. y col. *Arch. ges. Virusforsch.*, 15: 366, 1965.
- ¹⁰ Fuenzalida, E. y col. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 30: 431, 1964.
- ¹¹ Thomas, J. B. y col. *Virol.*, 25: 275, 1965.
- ¹² Sikes, R. K.; Larghi, O. P. *J. Immunol.*, en prensa.

Comentarios

DR. SIKES — Debemos mirar al futuro buscando una nueva vacuna para uso humano. Yo estoy completamente satisfecho con las vacunas animales HEP, LEP y de cultivo de tejido. Lo que se necesita desesperadamente es mejorar las vacunas para uso humano, encontrar otras más potentes y más seguras. El trabajo presentado por el Dr. Larghi constituye un intento de preparar una vacuna tal partiendo de una fuente de virus de alto título y luego eliminando el tejido extraño. Los resultados son promisorios y si no podemos obtener una vacuna de cultivo de tejido, este enfoque puede ser una respuesta.

SR. SANTI — Teniendo presentes los consejos dados en este Seminario acerca de extremar los controles de esterilidad, inocuidad y potencia de las vacunas antes de ser utilizadas, y por consiguiente

elaborar grandes lotes para posibilitar su buen control, es mi deseo preguntar al Dr. Larghi qué posibilidad existe de utilizar este método de purificación, teniendo presente que en todos los laboratorios productores lo hacemos con carácter industrial.

DR. SIKES— Estamos investigando la posibilidad de preparar grandes cantidades de antígenos por medio del empleo de columnas más grandes y los resultados son promisorios. Nos parece posible continuar el trabajo sobre la purificación de la vacuna de cerebro de ratón.

Hemos discutido en el Seminario la posibilidad de usar una vacuna purificada para la inmunización previa a la exposición. Si el producto estuviera disponible, mucha más gente podría ser inmunizada. Podríamos pensar en inmunizar a los chicos, por ejemplo, y a los carteros. Pero antes tenemos que contar con un producto altamente purificado.

El desarrollo de la globulina antirrábica inmune humana es otro problema. Necesitamos una vacuna que nos dé títulos muy altos en el hombre para este propósito.

SR. SANTI— Desde los primeros meses del corriente año, el Instituto Nacional de Microbiología produce vacuna antirrábica irradiada tipo Fuenzalida. Ha sido inquietud de este Instituto purificar la vacuna. Hemos comenzado unos trabajos utilizando genetrón o freón 13. Empleamos esta sustancia al 10% en el momento de disgregar a 18.000 rpm durante 5 minutos. Luego centrifugamos durante 30 minutos en centrifuga refrigerada a 2.000 rpm. Antes de ser irradiada, hemos titulado separadamente un lote sin purificar y uno purificado y hemos observado que, aunque muy poco, el título de virulencia es más elevado en la sustancia purificada. Luego de irradiada, hemos efectuado la prueba de potencia y hemos visto que la vacuna purificada protege casi en la misma línea que la vacuna bruta no purificada. En nuestro caso, protegía contra más de 1.000.000 DL_{50} . El dosaje químico arrojó los siguientes resultados: antes de usarse el genetrón, 3,6 gr. por mil de proteínas totales, 0,2 gr. por mil de esfingomielina y 1,5 gr. por mil de lípidos totales; después de ser tratada con genetrón, 0,5 gr. por mil de proteínas, 0,01 gr. por mil de esfingomielina y 0,09 gr. por mil de lípidos totales.

DR. WALKER— Me referiré brevemente a nuestro trabajo en Canadá con vacunas de cultivo de tejido. Hemos estado trabajando en una vacuna inactivada de riñón de hamster, hasta el momento 500 personas la han recibido sobre bases experimentales. La respuesta a la aplicación de 2-3 inyecciones con un mes de intervalo ha sido un título promedio de 1:65. Ha habido pequeñas o ninguna reacción local y los resultados parecen promisorios.

DR. LARGHI— Volviendo a lo que el Dr. Sikes informó sobre la posibilidad de trabajar con grandes volúmenes, nosotros hemos co-

menzado a trabajar en el Centro con columnas más grandes que las que usamos en el CDC, y hemos observado que los títulos de los eluatos son mayores que los obtenidos con columnas de 1 cm.

Respecto al uso del genetrón, también hemos realizado experiencias trabajando en el laboratorio del Dr. Sikes y tratando de purificar el virus. El resultado fue más o menos concordante con el obtenido aquí en el Instituto Malbrán. La regla general era que los virus éter-sensitivos no podían ser tratados con genetrón porque los inactivaría; pero a pesar de ser el virus rábico un virus éter-sensitivo, nosotros seguimos una técnica más o menos similar a la indicada por el Sr. Santi, sin perder título. Cuando hicimos varios tratamientos de la misma suspensión, el título fue cayendo progresivamente. Son muy interesantes los resultados respecto a la determinación de química que han hecho en el Malbrán y es de esperar que sigan trabajando con ello para que, como dijo el Dr. Sikes, podamos obtener una vacuna que pueda ser usada para la inmunización de personas que están bajo riesgo constante de contraer la infección.

DR. FUENZALIDA — Aparte de la importancia de estos trabajos de purificación en el uso de vacunas de cultivo de tejido para el hombre, hay que pensar que prácticamente la vacunación antirrábica no es una vacunación sino una hiperinmunización. Esto ha traído realmente todos los problemas que derivan de la vacunación antirrábica. Sabemos que los accidentes postvacunales se producen después de cierto número de dosis, de manera que, aparte de esta consideración de purificar y obtener vacunas cada vez más exentas de los factores que producen reacciones locales o de tipo sistémico, habría que pensar en estudiar nuevos esquemas con las vacunas más potentes. Sabemos perfectamente que hay otros procesos hoy día, como las revacunaciones o "booster" en las personas que ya recibieron tratamiento. Si nosotros llegamos a combinar ambos sistemas, podríamos tal vez excluir varias de las molestias que acarrea el tratamiento antirrábico. Vacunas más purificadas y menos vacunas, porque no es solamente la aplicación o la reacción que provoca, sino también el tiempo que quita a las personas que tienen que vacunarse.

CAPITULO VIII

REACTIVACION DE LA INFECCION LATENTE A VIRUS RABICO

ORLAND A. SOAVE *

Introducción

Sería conveniente definir la palabra *latente* para comprender mejor su aplicación con respecto a la infección por virus rábico. Según la edición de 1967 del diccionario Webster, *latente* significa existente en una forma oculta, durmiente o reprimida, pero generalmente con capacidad de ser reavivado; también, presente y capaz de vivir y desarrollarse en un huésped sin producir síntomas visibles de enfermedad¹. En mi opinión, esta definición es la que mejor corresponde al concepto de una infección rábica inaparente; es decir, que está escondida, dormida, pero capaz de ser activada.

Uno de los principios básicos de la relación huésped-parásito es que, en situación ideal, ambos viven juntos en relativa armonía, o, si el parásito daña al huésped, no lo hace tan gravemente como para perder su medio de sustento. Un parásito (virus) que siempre mata a sus huéspedes, eventualmente desaparecerá.

Un estudio de la ecología de los virus y de la epidemiología de las enfermedades virales demuestra que este principio es, en general, verdadero. En la literatura existente puede encontrarse evidencia de infecciones latentes o inaparentes para muchos virus. En el hombre, podemos citar la poliomielitis, la encefalitis equina, herpes simple, infecciones por virus adeno, coxsackie y ECHO; en animales: hepatitis canina y moquillo en perros, Reo 3 y coriomeningitis linfocitaria en ratones, el grupo de virus SV y B en monos rhesus, y rinotraqueitis infecciosa en ovinos. Estos no son más que unos pocos ejemplos.

En el caso de muchas de esas enfermedades virales, la influencia de los anticuerpos maternos sobre el desarrollo de infecciones latentes no puede ser pasada por alto. Los anticuerpos maternos pueden o no ser importantes en la epidemiología y patogénesis de la rabia.

Otro principio valedero para la mayoría de las enfermedades víricas es referente a la variación en la susceptibilidad de las distintas especies. Por ejemplo, los suinos pueden ser portadores del virus de la pseudorabia sin signos visibles de la enfermedad, como infección latente. Sin embargo, cuando ese virus ataca a los bovinos, causa enfermedad severa y fulminante. De la misma forma, el virus YABA produce infección inaparente en los monos verdes de África, siendo causa de tumores en la piel de los monos rhesus. El virus B del herpes de simios raramente provoca lesiones en los monos rhesus, pero

* Consultor, Organización Panamericana de la Salud.

puede acarrear al hombre trastornos fatales del sistema nervioso central. La fiebre amarilla es otro ejemplo de adaptación del virus a diferentes especies. Algunos tipos de monos parecen ser refractarios a este agente, pero cuando el virus invade el organismo humano puede causarle una seria enfermedad. Pocos son los virus que tienen tal especificidad de huésped que reaccionan en forma diferente con distintas cepas de una misma especie animal. Por ejemplo, el virus de la ectromelia de los ratones, puede no producir ninguna enfermedad en los ratones negros cepa C57, pero sí gran mortandad entre los ratones de la cepa C3H. En este caso, aún el genotipo de los ratones es importante desde el punto de vista de la susceptibilidad.

La evidencia obtenida con respecto a la epidemiología de los agentes virales apoya el concepto de la existencia de infecciones latentes o inaparentes. A menudo, animales con enfermedad subclínica pueden propagar el virus en alguna fase de la infección o aún esporádicamente por largos períodos. Tal relación huésped-parásito es ventajosa para el virus, porque ayuda a su supervivencia y facilita la transmisión a otros animales sin disminución material de la población de huéspedes.

El estado latente y la infección por virus rábico

En la introducción se han presentado evidencias capaces de apoyar el concepto de infecciones víricas latentes y subrayar la importancia de este tipo de relación para la supervivencia de los virus. Examinemos entonces el virus rábico a la luz de lo enunciado anteriormente.

Durante muchos años, los investigadores sostuvieron la hipótesis de que, en este terreno, infección era igual a enfermedad y muerte. La filosofía de que pudiera existir una relación simbiótica entre el virus rábico y el huésped, bajo ciertas circunstancias o en algunas especies de animales, es relativamente nueva y no ha sido extensamente examinada.

Sin embargo, para que el virus haya sobrevivido por lo menos 2400 años, o desde los tiempos de Hipócrates y Demócrito, tiene que haber encontrado algún huésped con el cual vivir en armonía. En la literatura y en investigaciones recientes podemos encontrar evidencias que sugieren este tipo de relación.

1. *Infecciones subclínicas o latentes.* Encuestas realizadas por investigadores del Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles, que trabajaron con zorros en algunas áreas enzoóticas de rabia de los Estados Unidos, han revelado que alrededor del 4% de los zorros aparentemente sanos tenían títulos de anticuerpos neutralizantes². Otras encuestas serológicas en murciélagos de cola libre demostraron la presencia de anticuerpos neutralizantes en el 40% de esos animales³. Las implicaciones de tales hallazgos requieren mayores investigaciones.

2. *Variación de la susceptibilidad de las especies.* En los trabajos realizados con zorros y zorras mochileras se encuentran pruebas de la diferencia de susceptibilidad al virus rábico de las distintas especies animales⁴. Aparentemente, el zorro es muy susceptible a los efectos del virus rábico, mientras que la zorra mochilera es extremadamente resistente aún a grandes cantidades de virus. Para descubrir una especie animal que sirva como huésped-reservorio-propagador, debemos examinar muchas especies diferentes, especialmente aquellas que rara vez, o nunca, han presentado síntomas de rabia clínica.

Si pudiéramos encontrar alguna especie animal que fuera muy resistente al virus pero capaz de diseminar el organismo periódicamente, o aún en raras ocasiones, esto daría un buen fundamento a la existencia de un huésped transmisor. Una situación semejante a la que existe con el virus B en mono rhesus sería excelente para la perpetuación y transmisión del virus rábico. El mono puede albergar el virus en la saliva, transmitiéndolo al hombre por mordedura o contacto con la boca, aunque el animal no haya presentado síntomas clínicos de la enfermedad.

3. *Recuperación después de una infección rábica.* Generalmente se afirma que cuando un animal o una persona desarrolla rabia clínica la muerte es inevitable. Sin embargo, los laboratoristas saben bien que cuando inoculan intramuscularmente animales de experimentación con 10 a 50.000 DL₅₀ en ratones, no todos mueren. Por alguna razón, hay diferencias individuales de susceptibilidad. Además, algunas cepas de virus calle presentan notables variaciones en su virulencia. Una cepa aislada en California de un zorrino, infectó ratones de laboratorio cuya pelambre se volvió áspera y pinchante, pero los animales se curaron después de 2-3 semanas. La rabia pudo diagnosticarse sólo sacrificando los animales enfermos y realizando la prueba de anticuerpos fluorescentes en muestras de cerebro⁵. Una cepa de virus aislada de zorros del Artico se comportó de la misma manera⁶.

Como generalmente sólo vemos animales enfermos o muertos, tenemos fija la idea de un 100% de mortalidad en los animales con rabia clínica. No podemos pasar por alto la posibilidad de que existan casos de enfermedad con hospedaje y transmisión del virus, seguida de recuperación. En la naturaleza, este hecho puede ocurrir entre los animales salvajes, sin que nosotros siquiera lo notemos. Es obvio que una secuencia tal de los hechos sería de gran importancia en la epidemiología de la rabia.

4. *Activación de la infección latente o crónica.* Hay numerosas informaciones publicadas, referentes a la activación de varias enfermedades víricas debido a alguna forma de tensión, irritantes químicos, rayos X, drogas tóxicas, antimetabolitos y aún mala nutrición. Por ejemplo, ratones negros cepa C57, sometidos a irradiación, desarrollan ectromelia aún cuando son, normalmente, muy resistentes.

Las inyecciones de adrenalina activan el herpes simple latente en el hombre, y la exposición al frío y la fatiga activan a los mixovirus produciendo enfermedad clínica. Una situación similar ocurre con la septicemia hemorrágica (shipping fever) de los bovinos.

La posibilidad de que un animal mantenga el virus rábico en algunas de sus células durante largos períodos y luego, repentinamente, desarrolle enfermedad y transmita el agente haría posible dos hechos básicos: daría al virus un hogar y permitiría la súbita aparición de epizootias en zonas anteriormente libres de rabia.

Aunque la documentación es harto dificultosa, hay muchos informes sobre períodos de incubación muy largos en el hombre. Varían de uno a cuatro años, y un trabajo reciente describe un caso con un período de incubación de 19 años y 6 meses⁷. Tales infecciones crónicas apoyan el concepto de infecciones latentes.

Nuestro interés ha estado dirigido hacia la posibilidad de que algunos animales puedan adquirir el virus rábico, desarrollar una infección latente, hospedar el virus en algunas de las células de su organismo, y luego, después de un largo período de tiempo, quizás debido a algún estímulo adverso, desarrollar enfermedad clínica y transmitir la rabia.

Tales investigaciones, realizadas con virus rábico en cobayos, nos suministran evidencia experimental de que existe tal relación. Los animales fueron inoculados intramuscularmente con 0,1 ml. de una dilución 10^{-3} de virus rábico (una cepa de virus calle aislada de un zorrino y obtenida por gentileza del Dr. H. N. Johnson, Rockefeller Foundation). Alrededor del 50% de los animales murieron de rabia. En una experiencia, los animales sobrevivientes recibieron, por vía subcutánea 20 unidades de Depo ACTH (Armour) día por medio durante 3 semanas, seis meses después de haber sido expuestos al virus rábico. Un animal murió después de casi dos semanas de tratamiento con ACTH. Se recobró virus rábico del cerebro, y se identificó por seroneutralización, pasaje en ratón y prueba de anticuerpos fluorescentes. En otra experiencia idéntica los cobayos sobrevivientes a la inoculación de virus rábico fueron mantenidos 8 meses antes de comenzar el tratamiento con ACTH. Nuevamente, un animal murió; se recobró virus del cerebro y se identificó^{8,9}.

En otro experimento, 24 cobayos recibieron la misma cepa y concentración de virus que los anteriores. Ocho meses después de la inoculación, los 10 animales sobrevivientes fueron colocados en la misma jaula. Eran todos machos y había luchas y tensiones debido al amontonamiento y la competencia para conseguir alimento. Un cobayo murió a las 6 semanas, o sea 8 meses y medio después de la inoculación de virus rábico. También en este caso el virus fue aislado del cerebro e identificado¹⁰.

Parecería que si el virus rábico puede sobrevivir en unos pocos animales en la naturaleza por largos períodos y luego, debido a factores de tensión, tales como crianza y parto, luchas y mala nutrición,

reaparecer repentinamente y producir enfermedad, este hecho también explicaría la supervivencia del virus y la aparición de enzootias o epizootias nuevas. Se requerirían muy pocos animales con este tipo de infección que albergaran el virus y, cuando se enfermaran clínicamente, transmitirían el agente a grandes cantidades de otros animales. Estadísticamente, sería posible que cada uno de esos animales fuera responsable de la transmisión de la rabia a alrededor de 5000 animales en seis meses.

5. *Transmisión del virus rábico por ingestión.* Aunque no esté directamente relacionado con el tema principal de mi exposición, voy a referirme a este aspecto del problema porque puede tener implicaciones en el mantenimiento y transmisión del virus rábico en las zonas selváticas.

Las observaciones de los naturalistas afirman el hecho de que el canibalismo es de ocurrencia frecuente entre los animales salvajes. En nuestras experiencias hemos observado que los ratones silvestres mantenidos en el laboratorio comen a sus compañeros de jaula muertos o moribundos; muy a menudo prefieren la cabeza o el cerebro. Consiguientemente, la ingestión de virus puede ser otra forma de transmisión en la naturaleza. Por cierto, el virus rábico sobrevive en todo el tejido cerebral de los animales muertos por un tiempo suficientemente largo como para hacer posible su ingestión por los animales canibales. Por ejemplo, el virus ha sobrevivido en material cerebral infectado por 4 días a 25°C, 9 días a 20°C, y por lo menos 40 días a 10° y 4°C. (El material disponible se terminó a los 40 días y las pruebas no pudieron continuarse por más tiempo a estas temperaturas bajas).

Dos de 50 ratones alimentados con cerebro de ratón infectado, desarrollaron rabia y murieron. Por medio de la prueba de neutralización se demostró que el agente causante de la muerte era el virus rábico ¹¹.

La segunda parte de esta experiencia, y la más importante, aún no está completa. Se refiere a la posibilidad de que la ingestión de virus rábico tienda a producir infecciones latentes debido a la ruta de entrada del organismo. Si esto ocurre, la experiencia sería una contribución significativa al mejor conocimiento de la epidemiología de la rabia.

Conclusiones

Es difícil creer que el virus rábico sea completamente diferente de la mayoría de los otros virus en cuanto a su ecología y epidemiología. Nosotros sabemos que la mayoría de los agentes virales estudiados no siempre matan a sus huéspedes y que producen infecciones latentes o inaparentes. Sabemos también que hay variación en la susceptibilidad de las diferentes especies a muchas enfermedades causadas por virus.

Con respecto a la rabia, la información con que contamos nos sugiere que:

- 1) Hay variaciones de susceptibilidad entre las diferentes especies.
- 2) Pueden ocurrir infecciones latentes o inaparentes.
- 3) Las infecciones crónicas pueden ser activadas debido a factores de tensión.

Necesitamos ahora descubrir los mecanismos básicos de supervivencia y transmisión del virus rábico bajo condiciones naturales entre los animales silvestres.

REFERENCIAS

- ¹ Webster's Third International Dictionary. G. and C. Merriam Co., Springfield, Ill., 1967.
- ² Sikes, R. K. Pathogenesis of rabies in wildlife. Part I and II. *Amer. J. vet. Res.*, 23: 1041-1048, 1962.
- ³ Constantine, D.; Kissling, R. E. CDC Communication, 1959.
- ⁴ Sikes, R. K.; Tierkel, E. Wildlife rabies studies in Southeast. U. S. Liv. Sanit. Ass., 1961.
- ⁵ Lennette, E. A. Viral and Rickettsial Diseases Laboratory, California State Health Department. Comunicación personal, 1965.
- ⁶ Crandall, R. U. S. Air Force, Veterinary Service. Comunicación personal, 1964.
- ⁷ Gavrila, I., y col. La rage chez l'homme. *Ann. Inst. Pasteur*, 112: 504, 1967.
- ⁸ Soave, O. A.; Johnson, H. N.; Nakamura, K. Reactivation of rabies virus infection in guinea pig with ACTH. *Science*, 133: 1360, 1961.
- ⁹ Soave, O. A. Reactivation of rabies virus infection in guinea pigs with ACTH. *J. inf. Dis.*, 110: 129, 1962.
- ¹⁰ Soave, O. A. Reactivation of rabies virus infection in guinea pigs due to the stress of crowding. *Amer. J. vet. Res.*, 25: 268, 1964.
- ¹¹ Soave, O. A. Transmission of rabies virus to mice by ingestion of infected mouse brain. *Amer. J. vet. Res.*, 27: 44, 1966.

Comentarios

DR. KAPLAN — El mensaje entonces significa "si lo muerde un perro, no se preocupe".

DR. SOAVE — Bueno, no completamente, porque hay una influencia psicológica ejercida sobre la persona expuesta a la rabia.

DR. BAER — Yo soy un poco conservador en este sentido, y hasta que no veo no creo. Con una enfermedad como la rabia, tenemos que acordarnos de que unos cuantos animales, con períodos de incubación de varios meses, pueden llevar la enfermedad de un lugar a otro. Pueden estar en el período de incubación, sin embargo, eso no im-

plica que haya eliminación del virus en la saliva o en la orina durante esta época. Es muy importante el hecho de que hasta ahora no se haya podido comprobar definitivamente en ninguna especie un estado de portador normal, en el cual el animal efectivamente elimina virus durante el período de incubación. El Dr. Soave se refiere a los 2.400 años transcurridos desde Hipócrates, cuando se tuvieron noticias de la rabia, afirmando que tiene que haber encontrado un huésped con el cual vivir en armonía. Pero la viruela también tiene varios miles de años de existencia y no ha vivido en armonía con el huésped. El 4% de los zorros encontrados por el Centro Nacional de Enfermedades Transmisibles no fueron mantenidos en cautiverio para ver si esos animales efectivamente estaban en período de incubación. El caso de los murciélagos de cola libre, en los cuales se encontró el 40% de anticuerpos, es una situación muy especial; hay cuevas grandes, contacto íntimo, enzootia, y los animales tienen muchísimas oportunidades de estar en contacto con saliva, orina y leche infectantes. En el laboratorio se observa frecuentemente la recuperación de animales enfermos; en la prueba de Habel se ven animales inoculados con la dilución 10^{-1} y 10^{-2} que se enferman y vuelven a recuperarse. En una oportunidad tuve ocasión de observar una rata que se enfermó, tuvo hemiplejía pero sobrevivió y a los 3 ó 4 meses la sacrificamos; pero en esos animales no hay eliminación de virus en la saliva. Creo que es importante aclarar que, hasta que se encuentre un animal o una especie que elimine virus en la saliva durante el período de incubación, no podemos dar tanta importancia a la latencia.

DR. SOAVE — Las cuestiones que he mencionado con respecto a la rabia son de carácter filosófico y pueden ser interpretadas como uno desee.

DR. KAPLAN — La excreción periódica del virus probablemente ocurre en animales aparentemente sanos, lo cual va en favor de la hipótesis sostenida por el Dr. Soave. Sin embargo, desde el punto de vista de salud pública, tal vez no sea un factor importante.

DR. MORA — Estoy totalmente de acuerdo con el Dr. Soave en la posibilidad de latencia, sin que la latencia signifique portador. Además, quisiera hacer una pregunta: ¿se hicieron pruebas de neutralización antes de aplicar ACTH en los grupos de cobayos con que Uds. trabajaron?

DR. SOAVE — No se realizaron pruebas de anticuerpos suero-neutralizantes antes de la experiencia.

PARTE II

INFORMES DE LOS PAISES

CUESTIONARIO SOBRE RABIA

País:

Fecha:

1. INFORMACION BASICA

Dar datos sobre población humana, canina y bovina, estimada para 1966 (por estados individuales y total del país).

2. RABIA ANIMAL

- 2.1. ¿Cuántos casos de rabia confirmados por laboratorio en perros, gatos, bovinos y otros animales domésticos y silvestres, fueron registrados durante cada uno de los últimos 5 años?
- 2.2. Las áreas de su país donde la rabia se considera enzoótica.
- 2.3. Qué programas de control de la rabia canina han sido llevados a cabo en los últimos 5 años (indicar en qué zonas y por quién). Número de perros eliminados, número de perros vacunados. ¿Qué vacunas fueron usadas?
- 2.4. Si existe la rabia transmitida por vampiros, ¿qué medidas se han tomado para controlar la enfermedad?
 - a) número estimativo de bovinos y equinos muertos por rabia.
 - b) número de bovinos vacunados por zona/año.
 - c) tipo de vacuna usada.
- 2.5. ¿Se ha hecho control de murciélagos hematófagos? Indicar las medidas tomadas.
- 2.6. ¿Han ocurrido casos de rabia en otros animales silvestres (excluyendo vampiros) en su país?

3. RABIA HUMANA

- 3.1. ¿Cuántos casos de rabia humana fueron informados durante cada uno de los últimos 5 años? Indicar si los casos fueron confirmados por diagnóstico de laboratorio y si se aplicó o no tratamiento antirrábico.
- 3.2. ¿Cuántas personas fueron atendidas y cuántas recibieron tratamiento antirrábico durante 1965 y 1966?
- 3.3. ¿Qué tipo de vacuna fue usada y cuál fue la guía para el tratamiento?
- 3.4. ¿Se han observado accidentes neuromusculares postvacunales?
- 3.5. ¿Se ha usado suero antirrábico hiperinmune?

4. DIAGNOSTICO

- 4.1. ¿Cuántos laboratorios realizan el diagnóstico de la rabia en su país y qué métodos diagnósticos se emplean?

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

- 5.1. ¿Se produce vacuna antirrábica para uso humano? Si es así:
 - a) ¿qué tipo y cantidad producen por año?
 - b) nombre de laboratorios productores (oficiales y privados).
- 5.2. ¿Se produce vacuna antirrábica para uso animal? Si es así:
 - a) ¿qué tipo y cantidad producen por año?
 - b) nombre de laboratorios productores (oficiales y privados).
- 5.3. ¿Qué pruebas de potencia e inocuidad se realizan en las vacunas arriba mencionadas? ¿Con qué frecuencia?
- 5.4. ¿Se produce suero antirrábico hiperinmune? Si es así, por qué método y qué cantidad?

ARGENTINA

1. INFORMACION BASICA *

Población humana y bovina estimativa. - Datos de la Dirección de Estadísticas y Censos, y el Servicio de Luchas Sanitarias

PROVINCIA	Población total	Ganado bovino
Capital Federal	3.325.109	—
Buenos Aires	7.737.978	19.953.173
Catamarca	202.109	72.214
Córdoba	2.023.214	7.900.789
Corrientes y Misiones	1.019.062	3.699.908
Chaco	651.968	1.158.469
Chubut	171.108	—
Entre Ríos	926.105	3.932.893
Formosa	223.739	940.416
Jujuy y Salta	797.614	92.030
La Pampa	179.152	1.691.233
La Rioja	150.453	250.472
Mendoza	974.761	277.540
Neuquen	134.129	112.018
Río Negro	231.731	203.456
San Juan	420.539	—
San Luis	201.905	1.214.019
Santa Cruz	61.277	—
Santa Fe	2.110.481	6.525.600
Santiago del Estero	523.746	719.666
Tucumán	925.320	66.335
Tierra del Fuego	8.500	—
TOTAL	23.000.000	48.801.251

En lo que se refiere a la población canina, consideramos que en la Capital Federal y el Gran Buenos Aires hay una relación de un 9 % con la población humana, lo que significa 730.000 perros; para el resto del país consideramos que es el 10 % de relación con la población humana (alrededor de 1.500.000 perros). Estas cifras son estimativas.

* Delegados al Seminario.

RABIA ANIMAL OCURRIDA EN AREAS URBANAS O CONURBANAS EN TODO EL PAIS CON DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

AÑO	CAPITAL FEDERAL Y GRAN BS. AIRES	SANTA FE	TUCUMAN	MENDOZA	CORDOBA	ROSARIO	SAN JUAN	CHACO	SALTA	TOTAL DEL PAIS
1962	1.731	12	56	98	262	120	113	----	36	2.428
1963	578	97	120	378	202	40	156	144	45	1.760
1964	1.390	142	10	267	37	109	71	60	15	2.101
1965	1.395	30	34	136	21	255	25	97	----	1.993
1966	1.200	57	43	113	7	142	22	49	16	1.689

RABIA EN ANIMALES DISCRIMINADOS POR ESPECIES EN EL AREA CAPITAL FEDERAL Y GRAN BUENOS AIRES CON DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

AÑO	PERROS	GATOS	CABALLOS	BOVINOS	CONEJOS	MONOS	VAMPIROS
1962	1.632	16	2	1	----	2	----
1963	546	5	----	1	----	----	----
1964	1.337	127	8	3	1	1	----
1965	1.195	53	4	86	----	----	30
1966	1.119	22	34	96	2	----	29

Rabia Canina - Año 1966 - Capital Federal y Provincia de Buenos Aires

MUNICIPIO	GCL (1)	SCL (2)	TOTALES
La Plata	148	90	238
Morón	33	187	220
Quilmes	128	90	218
La Matanza	50	101	151
Esteban Echeverría	79	37	116
Lanús	48	63	111
Vicente López	8	91	99
Gral. Sarmiento	32	61	93
San Isidro	21	64	85
Tigre	52	31	83
San Martín	36	43	79
Almirante Brown	50	17	67
Capital Federal	65	—	65
Merlo	25	36	61
Moreno	49	12	61
Lomas de Zamora	21	35	56
Avellaneda	31	20	51
San Fernando	42	5	47
Tres de Febrero	29	9	38
Berazategui	15	18	33
Ensenada	18	—	18
Escobar	19	—	19
Florencio Varela	13	—	13
Bartolomé Mitre	12	—	12
Chacabuco	11	—	11
Pergamino	12	—	12
Pilar	10	—	10
Berisso	10	—	10
Carmen de Areco	6	—	6
Lobos	6	—	6
Magdalena	5	—	5
Gral. Rodríguez	4	—	4
Salto	4	—	4
Mercedes	3	—	3
Marcos Paz	3	—	3
Cañuelas	3	—	3
Chivilcoy	2	—	2
San Pedro	2	—	2
San Vicente	2	—	2
Suipacha	2	—	2
Monte	2	—	2
Exaltación de la Cruz	2	—	2
Rawson	1	—	1
Baradero	1	—	1
Bragado	1	—	1
Chascomús	1	—	1
San Andrés de Giles	1	—	1
San Antonio de Areco	1	—	1
TOTALES	1.119	1.010	2.129

¹ CCL: Casos con confirmación de laboratorio. Exámenes efectuados en el Instituto Pasteur de Avellaneda; Laboratorio Pasteur de Buenos Aires; Instituto Nacional de Microbiología; Instituto Biológico de La Plata e INTA.

² SCL: Casos de diagnósticos clínicos en que no se envió por distintas razones material para el correspondiente examen de laboratorio.

2. RABIA ANIMAL

2.1. Ver cuadros de las páginas 316 y 317.

2.2. En el país hay varias regiones en las que la rabia es enzoótica. Desde el punto de vista epidemiológico las dividiremos en: zonas con rabia parálitica, que es enzoótica en las provincias de Jujuy, Salta, Formosa, Chaco, Misiones y la isla de Apipé (Dpto. de Ituzaingó, Corrientes). Zonas con rabia urbana, que es enzoótica en la Capital Federal y Gran Buenos Aires (esta zona representa el 75% del problema rábico urbano en el país, y las provincias de Mendoza, San Juan, Corrientes, Santa Fe, Chaco, Misiones, Salta, Jujuy, Tucumán y La Rioja.

2.3. Se efectuaron varios programas de control de rabia canina en la Capital Federal y el Gran Buenos Aires.

En 1957 se vacunaron 157.808 perros. En el año 1962 se vacunaron 180.800 perros y se capturaron 72.500.

En 1963 se efectuó una nueva campaña en esta zona, vacunándose 73.000 y capturándose 149.328 perros. En los años siguientes se efectuaron tareas de mantenimiento (vacunación y captura). Se usó la vacuna tipo Flury de bajo pasaje para la vacunación y en pocas cantidades la de tipo Kelsner.

En los años 1964 y 1965, en la provincia de Córdoba se efectuó una campaña de control y erradicación. En el primer año se vacunaron 62.742 perros, se catastraron 127.429 viviendas y se censó la población. Se trabajó 71 días con 16 equipos de vacunación. En 1965 y 1966 se continuó con tareas de consolidación. Se vacunó con vacuna tipo Flury de bajo pasaje.

En 1965 se efectuó una campaña de vacunación y captura en la provincia de Santa Fe, usándose vacuna tipo Flury de bajo pasaje.

2.4. En el país hay rabia en murciélagos vampiros. El número estimativo de bovinos y equinos muertos por rabia a partir del año 1959 es de 80.000 bovinos y 6.000 equinos.

El número de bovinos vacunados anualmente es de:

Provincia de	}	Jujuy	50.000
		Chaco	2.000
		Formosa	4.000
		Salta	20.000
		Misiones	20.000

Tipo de vacuna usada: 1) virus modificado por alto pasaje en embrión de pollo; 2) virus inactivado (por agentes físicos, por agentes químicos).

2.5. Se ha hecho control de murciélagos hematófagos. Continuamente se recorren los refugios denunciados y registrados con equipos de destrucción con gases tóxicos. A los murciélagos destruidos o capturados se les efectúan sistemáticamente exámenes de muestras de cerebro, de glándulas salivales y grasa interescapular.

2.6. Se ha comunicado la existencia de virus rábico en cerebros de zorros colorados capturados en la provincia de Mendoza en 1965. En 1966 se hizo idéntico hallazgo en una rata de los pantanos capturada en la provincia de Misiones y en una corzuela (ciervo americano de la provincia de Salta), la que presentaba heridas por mordedura de murciélago.

Recientemente se ha comprobado la existencia de rabia en ovinos del altiplano jujeño, área en la que no hay vampiros, por cuanto la localidad se halla a 3.800 metros de altura, con una variación diaria de temperatura que va de los 12° bajo cero en la noche a 15° en el día, con escasa humedad.

3. RABIA HUMANA

3. 1. Casos de rabia humana 1962 - 1966

PROVINCIA	1962	1963	1964	1965	1966	Total
Capital Federal y Gran Buenos Aires	25	18	15	11	8	77
Mendoza	—	5	2	—	1	8
San Juan	3	—	—	—	1	4
Córdoba	3	1	—	—	—	4
Corrientes	—	—	1	—	—	1
Santa Fe	1	—	1	2	—	4
Chaco	1	—	—	—	—	1
La Rioja	2	—	—	—	—	2
Misiones	—	—	—	2	—	2
Salta	2	—	—	—	—	2
Tucumán	1	—	—	—	—	1
Jujuy	—	—	—	2	—	2
TOTAL	38	24	19	17	10	108

Datos de la Provincia de Buenos Aires

Años	PERSONAS FALLECIDAS						Observaciones
	Tratadas		No tratadas		Total		
	Cap.	Pcia.	Cap.	Pcia.	Cap.	Pcia.	
1963		6		10		16	4 fallecen p/ accidentes post-vacunales
1964	1	4	3	7	5	11	1 de la capital se ignora si fue tratada
1965		1		10		11	
1966		1		5		6	
1967		3		4		7	hasta el 21-9-67

Todos los fallecidos por rabia fueron comunicados por la Dirección del Hospital Muñiz. Ninguno realizó tratamiento antirrábico en este Laboratorio. Todos los casos fueron confirmados de rabia con las pruebas de laboratorio (Webster positivos).

3.2. En el país fueron tratadas con vacunación antirrábica:

1965: 22.115 personas

1966: 21.446 personas

En el área de la Capital Federal y Gran Buenos Aires:

1965: 8.174 personas

1966: 6.480 personas

3.3. En la Capital Federal y el Gran Buenos Aires, en los últimos 2 años se usa exclusivamente la vacuna tipo Fuenzalida.

En el mismo lapso se hicieron, en algunas provincias, inmunizaciones con vacuna tipo Semple en Mendoza, Santa Fe, Córdoba, Corrientes. Hasta el mes de enero de 1966, el Instituto Malbrán entregó 96.000 dosis de este tipo de vacuna. A partir de abril de 1967 se entregó a todas las provincias vacuna tipo Fuenzalida.

El esquema de tratamiento humano es de 14 inoculaciones diarias con dosis de refuerzo a los 10 y 20 días de finalizada, cuando así lo recomienda el caso (resto del tratamiento según recomendaciones del 5º Informe del Comité de Expertos en Rabia de la OMS).

3.4. En los últimos años en la Capital Federal y el Gran Buenos Aires no se observó accidente vacunal fatal (años 1964 y 1965). En 1966 se constató 1 accidente vacunal fatal habiendo usado vacuna tipo Fuenzalida. Este caso, si bien confirmado clínicamente, no lo fue con estudios de laboratorio.

En la ciudad de Corrientes hubo, en 1966, 3 casos de accidentes vacunales, 1 fatal y 1 con recuperación parcial (mielitis transversa). En una meningoencefalitis con recuperación total se usó vacuna tipo Semple.

En 1966, con vacuna tipo Semple, se observaron accidentes neuríticos con recuperación total en Córdoba (1 caso), Formosa (3 casos) y Mendoza (5 casos).

3.5. En el año 1965, en el Laboratorio Pasteur de la ciudad de Buenos Aires, se efectuaron 1.770 tratamientos simples (vacuna sola) y 16 tratamientos con suero y vacuna. En 1967 se trataron 3.572 personas con vacuna solamente y 44 con tratamientos combinados suero y vacuna.

En los dispensarios del Gran Buenos Aires (18) no se efectuaron tratamientos con suero.

El Instituto Malbrán envió suero hiperinmune a las provincias que lo solicitaron: en 1965, 6.000 ampollas de 5 cm³; en 1966, 7.300 ampollas de 5 cm³.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Laboratorios que realizan el diagnóstico de la rabia y métodos que emplean:

- Laboratorios del Servicio de Luchas Sanitarias (SELSA) en Capital Federal, Jujuy, Salta y Resistencia: métodos de Sellers y de inoculación en ratones.
- Instituto Malbrán: inmunofluorescencia, Mann e inoculación en ratones.
- Instituto Pasteur de Buenos Aires, Avellaneda, Tucumán, Rosario, Santa Fe, Córdoba y Mendoza; Instituto Biológico de Mar del Plata: Sellers, Mann e inoculación en ratones.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. En el Laboratorio Pasteur de la ciudad de Buenos Aires, en 1966, se fabricaron 30.000 dosis de vacuna tipo Fuenzalida para uso humano; en el año 1967, 20.930 dosis del mismo tipo de vacuna.

El Instituto Malbrán produjo, en el año 1966, un total de 450 dosis de vacuna para uso humano tipo Fuenzalida, casi el 30 % vendida al exterior.

5.2. El Laboratorio Pasteur de la ciudad de Buenos Aires produjo, en 1966, 39.428 dosis de vacuna para uso canino del tipo Fuenzalida, y durante el año 1967, 46.526 dosis del mismo tipo.

El Instituto Malbrán produjo, en el año 1967, 35.000 dosis de vacuna para uso canino.

Firmas elaboradoras de vacunas

PARA USO CANINO:

FIRMAS	Tipo de vacuna	Años y Cantidad	
		1966	1967 (hasta agosto)
Fuerte Sancti Spiritu S.A.I.C.	(L.E.P.)	2.200	
Iffa - Estrella S.R.L.	(C.R.L.)	387.591	125.420
Lan - S.A.I.C.A.F.	(Kelsner)	24.700	21.700
Laboratorio Mardubo S.R.L.	(Kelsner)	8.200	1.200
Inst. Científico Paul S.A.	(Kelsner)	19.556	13.700
Inst. Rosembuch S.A.	(C.R.L.)	10.000	68.000
Laborat. Biológ. San Jorge S.A.	(Kelsner)	434	1.409
Laborat. Indamericanos S.R.L.	(Kelsner)	224	3.779
TOTALES		560.002	365.672
PARA USO BOVINO:			
Iffa - Estrella S.R.L.	(C.R.L.)	42.432	14.464
Lan - S.A.I.C.A.F.	(Kelsner)	30.000	14.000
Inst. Científico Paul S.A.	(Kelsner)	8.859	6.500
TOTALES		81.291	34.964

C.R.L.: (cerebro ratón lactante).

L.E.P.: (embrión de pollo).

5.3. El Instituto Malbrán efectúa, con cada partida de vacuna, pruebas de inocuidad en ratones lactantes y adultos. Así mismo con cada partida de vacuna se efectúa la prueba de potencia de Habel.

El Laboratorio Pasteur de la ciudad de Buenos Aires realiza pruebas de inocuidad en ratones de 11 a 13 gr. de peso y en ratones lactantes de 3-5 días. Se efectúa la prueba de potencia por el método de Habel.

5.4. SELSA produce suero antirrábico hiperinmune por el método del Instituto Pasteur de París y el del Dr. Pedro J. Schang.

La producción actual de suero antirrábico del Instituto Malbrán es de 50.000 cm³, purificado por digestión, y cuyo título es de 80 U/ml.

Comentarios

DR. GIMENO. — En coordinación con el Centro Panamericano de Zoonosis hemos preparado un programa vinculado al estudio de las características inmunogénicas de las distintas vacunas contra la rabia bovina. Entendemos que ése es uno de los puntos básicos de cualquier organización de campaña sanitaria contra la rabia pasesiante. Ya se ha iniciado un diseño para el estudio de distintas vacunas de tipo inactivadas y de tipo modificadas, para ver por cuánto tiempo se extiende el período de inmunidad, dato que creemos puede ser de gran importancia en el desarrollo de las campañas en nuestro país, debido a las condiciones de trabajo en los establecimientos.

Hay otro punto que creo puede ser también de cierto interés. Dada la evidente incoordinación que estamos demostrando en la presentación de los datos, sería bueno que, como resultado de este Seminario, pudiésemos llevar un régimen ya metodizado y protocolizado sobre la forma en que los datos deben ser registrados y notificados después a la Oficina Sanitaria Panamericana o a la Organización Mundial de la Salud, de manera que los países tengamos ya definida de alguna manera una metodología de trabajo que no lleve a estas distorsiones que evidentemente se están mostrando.

BOLIVIA

1. INFORMACION BASICA *

Datos sobre población humana, canina y bovina estimada para 1966

Departamentos	Pobl. humana	Pobl. bovina
Chuquisaca	315.300	200.000
La Paz	1.233.200	130.000
Cochabamba	570.000	150.000
Oruro	285.900	100.000
Potosí	648.900	115.000
Santa Cruz	340.700	400.000
Tarija	147.900	150.000
Beni	183.000	500.000
Pando	26.100	5.000
TOTAL	3.751.000	1.750.000

No existen estadísticas sobre población canina.

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos de rabia animal confirmados por laboratorio:

Especie	1965	1966	1967
Perros	5	17	2
Bovinos	—	6	7
Gatos	—	—	1
Tejón	—	1	—

2.2. Se consideran zonas enzoóticas para el ganado bovino: Beni, Santa Cruz, Chuquisaca, Tarija y Cochabamba.

2.3. En el año 1965 se realizaron las siguientes vacunaciones:

La Paz	5.000	perros
Santa Cruz	6.425	perros
Cochabamba	1.700	perros
Oruro	450	perros
Potosí	150	perros
TOTAL	13.725	perros

* Ministerio de Agricultura.

En esta campaña se empleó vacuna Connaught (ERA). Los particulares practican vacunaciones con vacuna Cooper Zeltia (cepa Flury HEP), LAN (método Kelser) y otras marcas, sin control estadístico.

2.4. La mortandad en bovinos se estima que corresponde a un 30-50% con relación a otras enfermedades en las zonas sub-tropicales. En equinos, un 5-10%. En estas zonas se vacuna un 20-30% de bovinos irregularmente, con diferentes clases de vacunas importadas. En años anteriores se utilizaba vacuna nacional no testada de tejido cerebral, cuya elaboración ha sido abandonada por los laboratorios del Estado.

2.5. Se han realizado ensayos de control con trampas, aplicación de veneno, dinamita, etc.

2.6. No se han efectuado estudios sobre rabia en otros animales silvestres, y no se tienen informes.

3. RABIA HUMANA

3.1. En los últimos 5 años se han notificado 9 casos: 1 en 1963 y 8 en 1965. Sólo dos casos fueron confirmados por laboratorio: 1 en La Paz y otro en Cochabamba. Los casos eran diagnosticados tardíamente y no recibieron vacuna por desconocimiento del problema.

3.2. Durante los años 1965 y 1966 recibieron tratamiento antirrábico 339 personas.

3.3. El tipo de vacuna utilizada es Semple modificada por Edmy Craus. La serie de tratamiento comprende 20 ampollas de 2 cc. aplicadas diariamente. La serie para niños es de 10 ampollas.

3.4. No se han observado accidentes neuroparalíticos.

3.5. No se ha utilizado el suero antirrábico hiperinmune por carecer de él.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Existen tres laboratorios regionales, dependientes del Ministerio de Salud: de La Paz, Cochabamba y Sucre, donde se efectúan diagnósticos histopatológicos.

Se cuenta con los laboratorios del Instituto Nacional de Biología Animal en La Paz (INBA I), en Santa Cruz (INBA II) y el de

Beni, Trinidad (INBA III), de los cuales INBA I e INBA II están equipados actualmente con microscopios comunes, microscopio fluorescente y bioterios con cría de ratones blancos suizos, algunos cobayos y conejos. Se está haciendo: coloración de Sellers, de Mann, pruebas histológicas, inmunofluorescencia y pruebas de inoculación en ratones.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. El país produce vacuna antirrábica para uso humano tipo Semple (utiliza virus Pasteur, São Paulo, Tavel). Su capacidad de producción por año es de:

1965: 359

1966: 128

Solamente produce el Instituto Nacional de Bacteriología (oficial).

5.2. Actualmente no se produce vacuna para uso animal, mas existe un proyecto con asesoramiento y ayuda financiera de las Naciones Unidas para producción de vacuna antirrábica de embrión de pollo u otras.

5.3. Las pruebas de inocuidad se realizan en conejos, cobayos y ratones blancos para cada lote.

5.4. No se produce suero antirrábico hiperinmune.

Comentarios

DR. RENATO DA SILVA. — Quisiera preguntar al representante de Bolivia si hacen aislamientos de virus rábico de *Desmodus rotundus*.

DR. ARAUJO. — El aislamiento de virus rábico se hizo en años anteriores; ahora hacemos solamente la investigación por inmunofluorescencia.

DR. ALVAREZ. — Quisiera preguntar al colega de Bolivia a qué distancia de nuestra frontera, Chile, tienen casos de rabia en perros o en otras especies.

DR. ARAUJO. — Cerca de la frontera con Chile en realidad no hemos podido detectar casos. Los más próximos serían los de La Paz y Potosí; la distancia exacta no se la puedo decir, pero es el Departamento más próximo a la frontera.

B R A S I L

1. INFORMACION BASICA *

Datos sobre población humana y bovina

Regiones Fisiográficas y Unidades de la Federación	Pobl. humana 1966	Pobl. bovina 1965
NORTE		
Rondônia	103.000	6.000
Acre	193.000	65.000
Amazonas	870.000	236.000
Roraima	39.000	223.000
Pará	1.857.000	1.103.000
Amapá	97.000	55.000
NORDESTE		
Maranhão	3.234.000	1.824.000
Piauí	1.397.000	1.720.000
Ceará	3.755.000	2.161.000
Río Grande do Norte	1.274.000	788.000
Paraíba	2.211.000	1.488.000
Pernambuco	4.620.000	1.486.000
Alagoas	1.380.000	786.000
Fernando Noronha	2.000	
ESTE		
Sergipe	834.000	685.000
Bahia	6.617.000	6.965.000
Minas Gerais	11.189.000	19.174.000
Serra dos Aimorés	640.000	
Río de Janeiro	4.259.000	1.796.000
Espírito Santo	1.427.000	1.128.000
Guanabara	3.977.000	20.000
SUR		
São Paulo	15.845.000	11.659.000
Paraná	6.450.000	3.203.000
Santa Catarina	2.579.000	1.866.000
Río Grande do Sul	6.340.000	11.126.000
CENTRO-OESTE		
Mato Grosso	1.254.000	12.448.000
Goiás	2.565.000	8.227.000
Distrito Federal	—	17.000
TOTAL	85.008.000	90.505.000

No existen datos sobre la población canina, pero estimase, para todo Brasil, en aproximadamente 8.000.000 de perros.

* Dres. R. da Silva, J. C. Loures y N. N. da Silva.

2. — RABIA ANIMAL

2.1. En el cuadro siguiente se registran los casos de rabia confirmados en los laboratorios, por especie animal (domésticos y silvestres), referentes a los Estados de Guanabara, São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco, Paraíba, Sergipe, Alagoas, Río Grande do Norte, Río de Janeiro y Río Grande do Sul. No tenemos datos referentes a los demás Estados de la Federación.

La información proviene del Instituto Biológico de São Paulo, Instituto Desiderio Finamor de Pôrto Alegre, y del Servicio de Defensa Sanitaria Animal.

Especie	1962	1963	1964	1965	1966
Bovinos	77	120	125	179	217
Equinos	10	10	16	15	23
Caninos	676	853	819	983	927
Gatos	50	43	32	72	88
Caprinos	1	3	—	3	2
Suinos	1	—	1	2	3
Murciélagos	9	1	—	9	7
Ratones	—	1	—	—	—
Simios	—	—	1	1	2
Tapir (anta)	1	1	—	—	—
Ovinos	—	2	1	1	1
Cobayos	—	—	—	2	—

2.2. Las principales zonas del país donde la rabia constituye un grave problema están localizadas en los siguientes Estados: Ceará, Río Grande do Norte, Paraíba, Alagoas y Sergipe (región nordeste); Minas Gerais, Espírito Santo, Río de Janeiro y Guanabara (región este); Santa Catarina y Río Grande do Sul (región sur).

2.3. El principal programa de control de la rabia lo constituye la vacunación canina, llevada a cabo principalmente en las capitales de los Estados. Muchas veces algunas ciudades del interior promueven campañas de vacunación a través de las Prefecturas locales y las Escuelas de Veterinaria o, aún a través de las Secretarías de Agricultura o de Salud de los respectivos Estados.

En los Estados de Guanabara, Minas Gerais (Belo Horizonte), S. Paulo y Río Grande do Sul, existen programas más intensos de lucha contra la rabia. Estos programas incluyen, además de vacunaciones, la captura de perros vagabundos, obligando a sus respectivos propietarios a pagar una multa en dinero para rescatarlos y a hacer vacunar sus perros.

Los perros capturados, que no son reclamados por sus dueños en el término de 8 días, son entregados a los hospitales y Escuelas de Veterinaria para trabajos de experimentación o son sacrificados por choque eléctrico o cremados en hornos especiales.

Las vacunas utilizadas en estos programas son las glicero-fenicas (Umeno y Doi) y Flury (LEP).

Datos relativos al combate contra la rabia canina en Belo Horizonte - Minas Gerais

Perros	EJERCICIOS					Total
	1961	1962	1963	1964	1965	
Capturados	3.692	2.922	2.055	536	—	9.205
Rabiosos	19	39	26	33	—	117
Vacunados	1.715	1.734	1.211	936	—	5.596
Sacrificados	1.559	1.431	952	401	—	4.343

Datos relativos a la vacunación de perros en Río de Janeiro - Guanabara

Vacunados	—	144.400	122.000	110.000	110.000	486.400
-----------	---	---------	---------	---------	---------	---------

En Río Grande do Sul han sido organizados programas aislados de vacunación canina. En 1966 se organizaron las siguientes campañas de vacunación:

Pôrto Alegre	12.210	perros
Passo Fundo	1.500	„
São Gabriel	1.000	„

Las vacunas empleadas en Pôrto Alegre fueron preparadas por el Instituto de Investigaciones Biológicas —7.426 dosis— y por el Instituto de Investigaciones Veterinarias — 4.790 dosis.

Las vacunas empleadas en los otros municipios fueron producidas por el Instituto de Investigaciones Biológicas. Los municipios mayores, tales como Pôrto Alegre, Pelotas y Santa María, realizan esporádicamente captura de perros vagabundos. No poseemos datos referentes a esas capturas. Podemos afirmar, sin embargo, que su número es bastante reducido.

2.4. Existe rabia transmitida por vampiros. Las medidas de control consisten en la vacunación sistemática de los animales en los focos de rabia. Para 1966 se estimó en 10.000 el número de animales muertos por rabia, considerándose en un 1% de ese total relativo la muerte de los equinos. Los tipos de vacuna usados son Formidogel y Flury (HEP).

Número de animales vacunados por Estado durante los años 1964, 1965 y 1966

Estados	Animales vacunados		
	1964	1965	1966
Amazonas	694	6.296	5.261
Pará	6.066	4.193	11.646
Maranhão	9	27	14
Piauí	15	396	7.840
Ceará	30.081	81.455	168.326
R. G. do Norte	954	2.128	1.375
Paraíba	8.355	20.962	43.329
Pernambuco	16.514	7.128	5.884
Alagoas	11.213	5.271	18.900
Sergipe	55.438	86.077	58.842
Bahia	1.027	5.919	198
Espírito Santo	10.953	19.359	31.230
Rio de Janeiro	6.848	89.274	172.340
Minas Gerais	1.186	13.607	29.602
Goiás	34.831	61.672	24.534
Mato Grosso	16.246	23.683	31.098
R. G. do Sul	944	31.269	240.988
TOTAL	268.874	490.459	896.893

2.5. El control de los murciélagos hematófagos es realizado con equipos especializados, por medio de las siguientes medidas:

a) Revisación periódica de las cuevas y huecos.

b) Localización de nuevas cuevas y, en lo posible, destrucción de los murciélagos en las ya existentes con aplicación de Rhodiatox (a. base de fósforo) empleado solo o juntamente con dinamita.

2.6. Han ocurrido tres casos en lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), 1 tapir y 1 venado, todos en régimen de cautiverio. Un caso en raposa (*Canis vetulus*) en el Estado de Ceará.

3. — RABIA HUMANA

3.1. y 3.2.

Rabia humana en Brasil de 1961 a 1965

Rubros	1961	1962	1963	1964	1965	TOTAL
Personas mordidas	165.497	284.264	384.574	492.740	592.260	1.919.339
Tratamientos iniciados	58.697	59.884	58.843	86.754	71.113	355.291
Tratamientos completos	24.309	56.549	60.019	74.347	57.888	273.112
Rabia humana total	73	51	77	73	76	350
Sin tratamiento	s.i.	s.i.	s.i.	s.i.	s.i.	300
Con tratamiento	s.i.	s.i.	s.i.	s.i.	s.i.	50

s.i. = sin información.

3.3. En el Servicio de Prevención de la Rabia Humana del Estado de Guanabara, la vacuna usada es del tipo Fuenzalida-Palacios. Excepcionalmente, y por discontinuidad en la provisión, se usan vacunas de tipo Semple, preparadas con cerebro de carnero.

Desde la implantación en el Servicio de Prevención de la Rabia Humana del uso de la vacuna Fuenzalida-Palacios, fueron tratadas 34.500 personas hasta el 31 de agosto de 1967. Durante el mismo período, 2.200 personas fueron tratadas con vacuna tipo Semple.

El esquema de tratamiento del Instituto de Prevención de la Rabia Humana está basado en la localización de la herida:

- a) contacto de saliva en la herida, 15 aplicaciones;
- b) mordeduras en los miembros inferiores y en el abdomen, 20 aplicaciones;
- c) mordeduras en los miembros superiores y en el tórax, 25 aplicaciones;
- d) mordeduras en la cabeza o en el cuello, 30 aplicaciones.

En Río Grande do Sul, hasta el primer semestre de 1965 se usaba vacuna preparada con tejido nervioso de carnero y virus inactivado por ácido fénico. A partir de julio de 1965 se comenzó a usar vacuna tipo Fuenzalida, modificada, esto es, con virus inactivado por beta-propiolactona.

Se aplica un solo tipo de tratamiento; 14 dosis de 1 ml., aplicadas por vía subcutánea. A partir de julio de 1967 se aplican dos dosis de refuerzo a los 10 y 20 días después de la última inyección.

3.4. Con la vacuna Fuenzalida-Palacios, preparada en el Laboratorio Patrón de Rabia del Instituto Oswaldo Cruz, y enviada a diferentes instituciones de prevención, jamás hemos recibido noticias de accidentes o complicaciones neuromusculares post-vacunales.

En la vacuna preparada por nosotros las reacciones acusadas son: ligero ardor en el lugar de la aplicación, la zona queda dolorida, con enrojecimiento y endurecimiento; a veces la reacción ataca a los ganglios. Raramente, fiebre llegando a los 38°C.

En el Instituto de Prevención de la Rabia Humana, la estadística registra 8 casos de reacciones neuromusculares, parálisis ascendente, tipo Landry, ataque de la parte muscular y vesical, con recuperación después de un tratamiento cuidadoso; los pacientes fueron mantenidos internados en el hospital. La vacuna aplicada en este caso fue de tipo Semple, y el número de personas a las que se aplicó ese tipo de vacuna fue de 2.200.

Al emplear la vacuna Fuenzalida-Palacios en 34.500 personas, se observaron 4 casos con estas complicaciones. Durante el período 1961-

1965 se observaron 276 accidentes entre 273.112 vacunados (Bahía: 1; Guanabara: 250; Minas Gerais: 2; R. G. do Sul: 1; São Paulo: 22).

3.5. En el Instituto de Prevención de la Rabia Humana del Estado de Guanabara se emplea suero antirrábico hiperinmune preparado en el Instituto Butantán, conteniendo 200 unidades por ml. Se emplearon:

1966	5.531 dosis
1967 (hasta el 31/8)	1.252 „

El suero se aplica de acuerdo a las recomendaciones de la OMS.

El Dr. Raphael Achilles Cali, director del Servicio de Prevención de la Rabia Humana, del Estado de Guanabara, afirma que "el suero antirrábico ha sido empleado, en los últimos años, de acuerdo al esquema de la OMS y está siendo aplicado con bastante restricción en cuanto a sus resultados.

"Las experiencias en animales indican un precario valor inmunizante. En la prevención humana, no hay justificación alguna para su empleo, considerando no sólo su efecto transitorio, sino también su antagonismo cuando se asocia con el uso de vacuna. Lo encontramos, así mismo, perjudicial para el tratamiento, y en poco tiempo deberá ser abandonado su uso. En junio del corriente año hemos comunicado a la OMS nuestras observaciones en cuanto al valor del suero, y no se justifica el valor que se pretende darle como anticuerpo ya formado en la curva ascensional, que es despreciable. Su interferencia en el esquema de suero-vacunación ya fue comprobada por los trabajos de P. Atanasiu, en una monografía reciente editada por la OMS, donde verificamos que el ápice de protección obtenida no es satisfactoria, ni capaz de conferir inmunidad".

El Dr. Raphael Achilles Cali sugiere al Seminario los siguientes puntos de vista para su perfecto esclarecimiento:

1) Unificación del tratamiento, tanto en lo que respecta a posología, como en lo que respecta al número de dosis de vacuna a aplicar.

2) Selección de un tipo patrón de vacuna para los países de América.

3) Conducta a ser seguida en cuanto al uso del suero hiperinmune.

4. — DIAGNOSTICO

4.1.

Métodos de diagnóstico usados en muestras sospechosas
de rabia en Brasil - 1965

Estados	Nº de laboratorios	Faraco	Sellers	Mann	A. F.	Ratones	Otros
Bahía	2	—	2	—	—	2	SN
Ceará	1	1	1	1	—	1	—
Goiás	1	1	—	—	—	1	—
Guanabara	1	1	1	—	—	1	—
Mato Grosso	1	—	1	—	—	—	—
Minas Gerais	2	—	2	1	1	2	SN
Pará	1	1	—	1	—	1	—
Paraná	1	—	1	—	—	1	—
Pernambuco	1	1	—	—	—	1	—
Río de Janeiro	3	3	2	—	1	3	SN
R. G. do Sul	1	—	1	—	—	1	—
S. Catarina	1	1	1	—	—	1	—
São Paulo	3	2	1	1	1	2	SN
TOTAL	19	12	14	4	3	17	

(De un informe del Dr. Juan Zapatel).

5. — PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. Se produce vacuna tipo Fuenzalida modificada, esto es, suspensión al 2 % de tejido nervioso de ratón lactante y virus inactivado por beta-propiolactona a 1/4000, preparada por el Instituto de Investigaciones Biológicas, laboratorio oficial del Estado de Río Grande do Sul.

Dosis producidas:

1965	—	102.000
1966	—	106.000
1967	—	67.700

(1er. sem.)

En el Laboratorio Patrón de la Rabia del Instituto Oswaldo Cruz, se produce desde 1964 vacuna tipo Fuenzalida-Palacios, a una concentración del 2%; la dosis es de 1ml. La producción de vacuna en el Laboratorio Patrón de Rabia ha sido la siguiente:

1964	—	7.500 dosis
1965	—	31.000
1966	—	120.000
1967	—	42.900

(hasta 30/8)

Durante el período 1/8/66 y 31/7/67 se inocularon 17.085 ratones lactantes; se cosechó el cerebro de 12.972, obteniéndose de ellos 1.769 g. El promedio fue de 0,136 g. por ratón, lo que corresponde a 6,8 dosis de vacuna por ratón. Se realizaron 8-9 inoculaciones mensuales, con un máximo de 3.221 ratones inoculados en agosto de 1966.

Laboratorios que producen vacunas antirrábicas para uso humano en el Brasil, 1965

Estado	Instituto	Tipo de vacuna	Animal de producción	Prueba de potencia
Alagoás	Dpto. Estatal de Salud	Semple	Carnero	No
Bahía	Inst. G. Moniz	Semple	Carnero	No
E. Santo	Inst. Pasteur	Fermi	Carnero	No
Minas Gerais	Inst. E. Díaz	Semple	Carnero	Sí
Paraná	Inst. Pasteur	Pasteur	Conejo	No
	Ponta Grossa (Hosp.)	Pasteur	Conejo	No
Pernambuco	Secr. de Salud	Semple	Carnero	No
Río de Janeiro	Inst. Vital Brazil	Semple	Carnero	Sí
	Inst. O. Cruz	Fuenzalida	Ratones	Sí
R. G. do Norte	Iab. Central de Salud	Pasteur	Conejo	No
R. G. do Sul	Inst. Invest. Biol.	Semple	Carnero	Sí
Sta. Catarina	Centro de Salud	Semple	Carnero	No
São Paulo	Inst. Butantán	Fuenzalida	Ratones	Sí
		Semple	Carnero	Sí
	Inst. Pinheiros	Semple	Carnero	Sí
Sergipe	Inst. Perreras Horta	Semple	Carnero	No

(De un informe del Dr. Juan Zapatel).

5.2. El Instituto de Investigaciones Biológicas (Río Grande do Sul) produce vacuna para uso canino. Suspensión al 2% de tejido nervioso de ratón lactante y virus inactivado por beta-propiolactona. La dosis recomendada para cada animal es de 2,5 ml.

Dosis producidas:

1966 36.400

1967 (1er sem.) 3.645

El Instituto de Investigaciones Veterinarias de Guaíba produce vacuna para uso canino y bovino.

- 1) *Vacuna para uso canino* — Suspensión al 10% de encéfalo de caballo y virus inactivado por ácido fénico.

Dosis producidas:

1963	9.620
1964	10.400
1965	4.100
1966	19.500
1967 (1er. sem.)	3.080

2) *Vacuna para uso bovino* — Suspensión de encéfalo de caballo al 4%, con virus inactivado por formol y adsorbido por hidróxido de aluminio (Formidogel).

Dosis producidas:

1963	853.965
1964	730.300
1965	292.500
1966	294.200
1967 (1er. sem.)	200.000

Laboratorios particulares: Instituto Riograndense de Fiebre Af-tosa y Laboratorios Noli Ltda. La producción de los últimos 5 años fue la siguiente:

1) *Vacuna para uso canino*

Lab. Noli: 1963	—	128.502	1965	—	186.264
1964	—	239.950	1966	—	17.606
			1967 (1er. sem.)	23.235	

2) *Vacuna para uso bovino*

I. R. F. A.	Lab. Noli
1963 — 476.130	1963 — 321.650
1964 — 320.400	1964 — 1.151.940
1965 — 363.040	1965 — 718.530
1966 — 900.000	1966 — 780.660
1967 — 529.240	1967 — 584.200
(1er. sem.)	(1er. sem.)

Tipos de vacuna de uso veterinario y dosis producidas por los laboratorios oficiales

Año	Glicero-fenicada	Cloro-formada	Flury HEP	Flury LEP	Formidogel
1962	615	145	20.924	54.758	853.963
1963	31.667	27	24.620	69.372	1.250.641
1964	101.837	32	83.888	64.041	702.845
1965	22.974	238	226.195	78.741	888.225
1966	28.697	—	116.675	99.384	

Laboratorios que producen vacunas antirrábicas para uso animal en Brasil, 1965

Estado	Instituto	U S O C A N I N O			U S O B O V I N O		
		Tipo	Animal de producción	Prueba de potencia	Tipo	Animal de producción	Prueba de potencia
Bahía	Inst. G. Moniz INDEA	Avianizada Simple	Embrión Carnero	Si Si	Avianizada Fenicada	Embrión Equino	Si Si
Ceará	INDEA	Glicero-fenicada	Equino	Si	Fenicada	Equino	Si
Goiás	INDEA	Glicero-fenicada	Carnero	Si	Fenicada	Equino	Si
Guanabara	Centro Est. de Veterinaria	Simple	Carnero	Si			
Mato Grosso	INDEA	Avianizada	Embrión	Si			
Minas Gerais	Lab. Hertape	Glicero-fenicada	Equino	Ocasionalm.	Fenicada	Equino	Ocasionalm.
	Lab. Impar	Avianizada	Embrión	Si	Avianizada	Embrión	Si
	Lab. Imbi	Simple	Perro vago	No	Simple		No
	Lab. Fama	Avianizada	Embrión	Ocasionalm.	Avianizada	Embrión	Ocasionalm.
Pará	INDEA	Avianizada	Embrión	Si	Avianizada	Embrión	Si
Paraná	INDEA	Fermi	Equino	Si	Fenicada	Equino	Si
	Lab. Prado	Glicero-fenicada	Carnero	No	Glicero-fenicada	Equino	No
Pernambuco	INDEA	Glicero-fenicada	Carnero	No	Glicero-fenicada	Equino	No
Roraima	INDEA	Glicero-fenicada	Carnero	Si	Fenicada	Equino	Si
Río de Janeiro	Inst. V. Brazil Inst. IPEACS	Glicero-fenicada	Equino	No	Glicero-fenicada	Equino	Ocasionalm.
	Inst. Inv. Biol	Glicero-fenicada	Equino	Si	Glicero-fenicada Avianizada	Equino Embrión	Si Si
Río G. do Sul		Fuenzalida (experi- mental)					
	Inst. D. Finamor	Glicero-fenicada	Carnero	Si	Fenicada	Equino	Si
	Inst. Aftosa				Fenicada	Equino	Si
	Lab. Noli	Glicero-fenicada	Equino	No	Glicero-fenicada	Equino	No
Sta. Catarina	INDEA (Lajes)				Fenicada	Equino	Ocasionalm.
	INDEA (São José)				Fenicada	Equino	Ocasionalm.
São Paulo	Inst. Pinheiros	Glicero-fenicada	Equino	Si	Glicero-fenicada	Equino	Si
	Lab. Bio Vet	Avianizada	Embrión	Si	Avianizada	Embrión	Si
	Pfizer	Avianizada	Embrión	Si	Avianizada	Embrión	Si
	Lab. Franca	Avianizada	Embrión	No	Avianizada	Embrión	Ocasionalm.
	Inst. Biol.	Avianizada	Embrión	Si	Avianizada	Embrión	Si
Sergipe	INDEA	Fermi	Equino	Ocasionalm.	Fermi	Equino	Ocasionalm.

Obtenido de un informe del Dr. Juan Zapatel.

Dosis de vacuna antirrábica para uso humano y animal producidas por laboratorios estatales y particulares, Brasil 1961/1965

Año	Uso humano	Uso canino	Uso bovino
1961	1.808.072	801.651	1.554.416
1962	3.717.632	913.969	2.347.628
1963	2.447.330	410.532	2.731.041
1964	2.983.979	655.668	3.446.298
1965	2.259.184	1.854.483	2.908.192
TOTAL	13.216.197	4.636.303	12.987.575

Obtenido de un informe del Dr. Juan Zapatel.

5.3. En el Instituto de Investigaciones Biológicas (Río Grande do Sul) se realizan, sobre cada partida, las siguientes pruebas:

- 1) Prueba de esterilidad del inóculo en tioglicolato, antes y después de la inoculación.
- 2) Control de la virulencia del inóculo en ratones.
- 3) Control de esterilidad, en tioglicolato, de la masa total de encéfalo.
Después de la preparación de la suspensión inicial al 20%:
- 4) Recuento bacteriano, en tioglicolato, con diluciones decimales.
- 5) Titulación del virus en la suspensión inicial al 20%.
Después de la inactivación con beta-propiolactona:
- 6) Prueba de esterilidad en tioglicolato y, eventualmente, en agar-sangre.
- 7) Prueba de inocuidad en ratones.
Después de la preparación de la suspensión final al 2%:
- 8) Prueba de esterilidad en tioglicolato.
- 9) Inocuidad final en cobayos (vía subcutánea) y ratones (vía subcutánea e intracerebral).
- 10) Prueba de potencia de la vacuna - Habel.

En el Instituto de Investigaciones Veterinarias se realizan las siguientes pruebas:

- 1) Vacuna para uso canino.
 - a) Prueba de esterilidad en aerobiosis y anaerobiosis.
 - b) Prueba de virus libre en ratones.
 - c) Periódicamente se aplica la prueba de Habel; no en todas las partidas.

- 2) Vacuna para uso bovino - Formidogel
 - a) Titulación de la suspensión vírica. Los títulos deben ser mayores de 10^6 .
 - b) Prueba de inocuidad en cobayos.
 - c) Determinación del pH.
 - d) Control de esterilidad.
 - e) Prueba para verificar la formación de anticuerpos.

En todas las partidas de vacuna antirrábica producidas en el Laboratorio Patrón de la Rabia del Instituto Oswaldo Cruz se realizan las siguientes pruebas:

- 1) En el tejido nervioso al 10% antes de la inactivación por ultravioleta.
 - a) Pruebas bacteriológicas en medios anaerobios, aerobios y para hongos.
 - b) Determinación del tipo de agente microbiano presente.
 - c) Recuento del número de colonias.
 - d) Titulación del virus en ratones.
- 2) Después de inactivación por ultravioleta y preparación final de la vacuna:
 - a) Pruebas bacteriológicas en medios aerobios, anaerobios y para hongos.
 - b) Verificación de la presencia de sustancias pirogénicas.
- 3) Pruebas de inocuidad y toxicidad en ratones adultos y lactantes, conejos y cobayos, por vía intracerebral, intraperitoneal y subcutánea.
- 4) Prueba de potencia de Habel.

Comentarios

DR. LÓPEZ ADAROS — Creo haber oído que habían tenido algunos accidentes con vacuna Semple, y 4 accidentes neuromusculares sobre un total, calculo, de unas 4 a 5 mil personas vacunadas con vacuna de cerebro de ratón lactante. Quisiera saber si entendí bien.

DR. LOURES — Ocho casos recuperados post-tratamiento en 2.200 personas en que fue aplicada la vacuna Semple. Y con vacuna Fuenzalida, 4 casos en 34.500 personas tratadas.

DR. ABELSETH — Quisiera saber si cuentan con información sobre las muertes ocurridas por rabia entre los 800 ó 900 mil animales vacunados con Flury HEP.

DR. DA SILVA — En este sentido hay un problema muy serio que pretendemos aclarar justamente en este Seminario. Realmente tanto al emplearse la vacuna Flury HEP, como al vacunar con Formidogel, vacunas glicero-fenicadas o cloroformadas, siempre de 35 a 40 días después aparecen casos de rabia. Realmente las vacunas que estamos empleando no están dando los resultados deseados.

DR. MORA — Mi pregunta se refiere al esquema de vacunación humana que usan con la vacuna Fuenzalida-Palacios. Me pareció entender que usaban 15, 20 y 30 dosis y que en los niños menores de 7 años empleaban 1 cm³ por dosis.

DR. LOURES — Quince, 20, 25 y 30 dosis. Antes de 7 años, 0,5 ml., después de los 7 años 1 ml.

DR. MORA — ¿Qué origen tiene la recomendación de este esquema, que difiere del recomendado por la OMS y del que se usa en Chile, donde primero se empleó la vacuna Fuenzalida-Palacios?

DR. LOURES — La experiencia del Dr. Raphael Achilles Cali, en el Instituto de Prevención de la Rabia Humana de Río de Janeiro.

DR. PORZECANSKI — Yo quisiera hacer una observación referente al hecho de que muchos de los datos que se dan en los informes tienen un valor muy relativo en todas sus formas. Me refiero especialmente al número de casos de rabia canina y luego a la cantidad de perros en el país. En cuanto al número de casos de rabia, en realidad son muy pocos los perros que llegan al diagnóstico de laboratorio, de manera que cuando damos una cifra basada en casos diagnosticados en el laboratorio podemos estar seguros de que queda por debajo del número real de casos ocurridos. En cuanto a la población canina, creo que países importantes como Méjico, por ejemplo, y el Brasil, se basan en el cálculo de 1 perro por cada 10 habitantes. Esa cifra se basó una vez en una encuesta realizada sobre una pequeña zona muy relativa, y lamentablemente parece que se la toma como una ley. Yo creo que el número de perros debe calcularse así: en las ciudades una proporción; en la periferia, en los alrededores de las ciudades, la proporción debe ser mucho más grande; y en establecimientos agrícola-ganaderos un promedio de 5 perros por cada uno.

DR. DA SILVA — La observación del colega de Uruguay es muy correcta, pero en Brasil no contamos con una estadística segura para los perros. Tenemos estadísticas sobre todos los animales, menos para los perros. Entonces hicimos un cálculo aproximado.

COLOMBIA

1. INFORMACION BASICA *

Población humana, canina y bovina por departamentos del país.
Colombia, 1966.

DEPARTAMENTOS	POBLACION HUMANA	POBLACION CANINA	POBLACION BOVINA
Antioquía	2.650.191	306.693	1.070.754
Atlántico	774.437	88.789	148.611
Bolívar	1.069.750	124.616	1.958.581
Boyacá	1.101.829	130.965	1.532.517
Caldas	1.523.290	170.190	446.640
Cauca	635.763	75.151	498.978
Córdoba	638.990	71.442	1.859.794
Cundinamarca	3.060.420	348.975	820.932
Chocó	190.794	22.505	24.578
Guajira	155.284	18.329	191.261
Huila	438.164	52.220	575.785
Magdalena	871.142	97.704	2.236.129
Meta	189.340	20.491	562.417
Nariño	732.082	87.329	245.036
N. Santander	560.261	67.150	330.772
Santander	1.044.769	123.916	680.096
Tolima	861.454	104.140	711.200
Valle del Cauca	1.851.849	214.502	643.150
Intendencias y Comis.	2.270.225	2.129.753	482.274
TOTALES	18.620.034	2.154.860	15.019.505

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos de rabia confirmados por laboratorio en algunas especies animales. Colombia 1962-1966.

ESPECIES	1962	1963	1964	1965	1966	Total
Bovinos	76	117	166	101	142	602
Equinos	3	7	11	10	5	36
Porcinos	5	6	6	5	6	28
Ovinos	4	6	3	5	3	21
Caninos	977	998	1.286	887	1.484	5.632
Roedores	1	—	—	2	2	5
Simios	—	—	1	1	—	2
TOTAL.	1.066	1.134	1.473	1.011	1.642	6.326

* Ministerio de Salud Pública.

2.2. Se consideran áreas enzoóticas de rabia canina la totalidad de los Departamentos y territorios del país. En cuanto a rabia paralítica, son áreas enzoóticas la parte norte del Departamento de Antioquia, el Departamento de Guajira en los límites con el Departamento de Magdalena, la parte norte de este Departamento, y algunas regiones del nuevo Departamento del César.

2.3. En Colombia no ha existido hasta el momento un programa nacional para control de la rabia canina. Sólo se realizan actividades aisladas y limitadas en algunas localidades del país que cuentan con posibilidades económicas, bajo la directa responsabilidad de los respectivos Servicios de Salud. Por esto las cifras anuales de vacunación de perros es tan sólo del orden de 44.625 en 1962, 32.160 en 1963, 49.229 en 1964, 149.606 en 1965 y 149.694 en 1966. En la realización de estas vacunaciones se utilizaron vacunas tipo Semple, Kelsner, y de cerebro de ratón lactante.

2.4. Existen zonas del país donde se ha demostrado la presencia de rabia transmitida por murciélagos hematófagos. Sin embargo, no se tienen datos nacionales sobre la población bovina y equina muerta por esta causa. La vacuna usada en la protección de bovinos es de procedencia extranjera, y corresponde al tipo de vacuna de virus vivos atenuados. Los datos de vacunación realizada en bovinos en cada uno de los últimos 5 años figura en el cuadro siguiente.

**Vacunaciones en bovinos por Departamentos del país
Colombia 1962-1966**

DEPARTAMENTOS	1962	1963	1964	1965	1966	Total
Antioquia	610	1.740	5.102	—	2.700	10.152
Atlántico	362	3.619	2.311	—	—	6.292
Bolívar	1.059	72	3.004	—	—	4.135
Boyacá y Casanare	—	325	—	—	—	325
Cauca	1.000	—	1.217	—	—	2.217
Córdoba	—	680	—	—	—	680
Guajira	20.139	9.787	25.213	1.552	4.792	61.483
Huila/Caquetá	8.790	83	1.125	—	—	9.998
Magdalena	—	15.244	12.308	—	—	27.552
N. Santander	—	390	—	—	31	421
Santander	—	7	—	—	360	367
Valle	—	280	—	2.090	390	2.760
TOTALES	31.960	32.227	50.280	3.642	8.273	126.582

NOTA: En los Departamentos no mencionados no se han realizado vacunaciones.

2.5. Solamente se han hecho algunos ensayos parciales sobre control de murciélagos hematófagos, pero sin resultados satisfactorios.

2.6. Se han descubierto casos de rabia, pero muy pocos, en animales silvestres; concretamente, en roedores y simios.

3. RABIA HUMANA

3.1. Los casos de rabia humana notificados en el país durante los últimos 5 años han sido:

1962 — 36	1964 — 195
1963 — 137	1965 — 109
1966 — 50	

La mayor parte con diagnóstico de laboratorio.

3.2. Las personas atendidas por medio de tratamiento antirrábico fueron 26.707 en 1965 y 31.892 en 1966.

3.3 Se utilizó vacuna irradiada obtenida en cerebro de ratón lactante, empleando como esquemas de tratamiento el tipo corriente de 14 inyecciones, una diaria; y el tipo intensivo de 21 inyecciones, también a razón de una diaria. Se aplica igualmente suero antirrábico simultáneo en los casos de mordeduras extensas, múltiples, profundas, o de localización alta.

3.4. Han ocurrido accidentes neuromusculares post-vacunales, pero en proporción extraordinariamente baja.

3.5. Se utiliza suero antirrábico hiperinmune en los casos señalados en 3.3.

4. DIAGNOSTICO

4.1. En el país hay 18 laboratorios que ejecutan pruebas para diagnóstico de rabia. Estas consisten en examen directo e inoculaciones. Algunos muy especializados practican también pruebas de inmunofluorescencia.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. El país produce vacuna antirrábica humana en cantidad suficiente para sus necesidades. Esta vacuna es de tipo irradiado, y se obtiene a partir de cerebro de ratón lactante. La producción es exclusivamente oficial, a través del Instituto Nacional de Salud, y su cantidad para 1966 fue de 446.495 dosis de 2 cc.

5.2. El país, también por conducto del Instituto Nacional de Salud, produce vacuna antirrábica para uso animal, pero exclusivamente de tipo canino. La de uso bovino se encuentra apenas en proceso de elaboración. La vacuna que se produce es irradiada, obtenida a partir de cerebro de ratón lactante, y la cantidad fabricada en el año 1966 fue de aproximadamente 150.000 dosis.

5.3. Las pruebas de potencia y de esterilidad que se realizan en las vacunas antirrábicas son:

a) En vacuna canina: prueba de potencia de Habel y prueba de esterilidad en tioglicolato, gelosa sangre, gelosa ordinaria y Saboureaux.

b) En vacuna humana: prueba de potencia contra el estándar americano y prueba de esterilidad, lo mismo que para la vacuna canina.

5.4. El país produce suero antirrábico hiperinmune de origen equino por conducto del Instituto Nacional de Salud. La producción de este suero estuvo suspendida en el año 1965, por razones de orden presupuestal, pero se reanudó a partir del segundo semestre de 1966 con una producción total de 1.838 frascos de 10 cc. para dicho año.

Comentarios

DR. RENATO DA SILVA — Nos gustaría que el Dr. Calderón informase sobre si el aislamiento de virus en simios fue en animales salvajes o domesticados.

DR. CALDERON MOLANO — Solamente hay conocimiento de 2 casos; correspondieron a 2 simios introducidos al interior del país por la zona selvática y eran animales domesticados; presumiblemente fueron contagiados de rabia por una persona enferma.

DR. PORZECANSKI — Yo quisiera preguntar si los 50 casos humanos ocurridos en 1966 fueron tratados o sin tratar.

DR. CALDERON MOLANO — Todos los casos se refieren a personas que por una u otra circunstancia no recibieron oportunamente el tratamiento antirrábico.

DR. PORZECANSKI — Nos ha impresionado el informe del colega de Colombia, pues en ese país la rabia parece constituir un tremendo problema, y nos llama la atención que, a pesar de ser un problema que viene "in crescendo", el Ministerio de Salud Pública no cuente con recursos para realizar el programa de lucha antirrábica. Nosotros hemos visto en nuestro país, en Uruguay, en ocasión del último

brote, que con relativamente pocos recursos, recurriendo a la población, a la colaboración militar y a la policial, se puede llevar a cabo una campaña intensa de vacunación masiva. Yo pediría a mi compañero de delegación, el Dr. Pérez Moreira, que se ocupaba de ese aspecto, que dijera dos palabras sobre recursos y usos necesarios para hacer una campaña de vacunación masiva.

DR. PEREZ MOREIRA — Cuando se elaboró el programa de lucha antirrábica, el propósito fue erradicar la rabia del país y mantener los controles necesarios para evitar su futura reintroducción. En vista del cumplimiento de ese propósito se plantearon una serie de objetivos dentro de los cuales, fundamentalmente, entraba como prioritario el de educación sanitaria. En realidad, la programación de la campaña se realizó no para el pueblo ni por el pueblo, sino con el pueblo. El Ministerio de Salud Pública en aquel momento había organizado una Comisión Interministerial de Lucha contra la Rabia, y dio participación a la comunidad en todos sus grupos. Las puertas se mantuvieron abiertas para la prensa, para cualquier tipo de noticia que ellos creyeran de valor publicar; no se les daba la noticia que queríamos, ellos la buscaban por sí mismos. El problema de educación sanitaria se planteó fundamentalmente a nivel escolar, porque creemos que al hablar de educación sanitaria en una situación de emergencia debemos actuar sobre el escolar y no sobre el adulto; habría que modificar los hábitos de conducta, y sabemos que eso lleva tiempo. Es así que podemos asegurar que la campaña de lucha antirrábica llevada a cabo en el año 1966, con un total de 380.000 perros vacunados, fue hecha, casi se puede decir, gracias a la gran colaboración de los niños. Empleamos sí personal adulto capacitado, de enfermería, y sujetadores del Ejército y de la Policía. Pero cada equipo que recorrió las calles de Montevideo y de las demás ciudades del Uruguay iba acompañado permanentemente por los niños de los lugares donde estaban actuando. En fin, hay que decidirse a hacerlo; al pueblo latinoamericano hay que saber pedirle, y entonces cumple y ayuda.

DR. CALDERON MOLANO — Al decir yo que la rabia era el principal problema me refería al punto de vista de las zoonosis, porque es bien sabido que nosotros, por suerte, no tenemos una serie de zoonosis que en otros países latinoamericanos existen. Por consiguiente, de las distintas zoonosis, la rabia es la única que evidentemente tiene características de importancia. La otra observación que yo tengo que hacer con respecto a lo expresado por los colegas del Uruguay es que, en la solución de este problema, la parte técnica está suficientemente difundida y conocida. El aspecto que nos diferencia es el de las po-

sibilidades o recursos económicos de que disponemos. Fundamentalmente, nuestra situación no es comparable, desde el punto de vista geográfico y de población, de composición de la población, de ubicación de la población, al problema o a la situación de Uruguay. No hay que olvidar que somos un país con 1.140.000 Km² y con una población de 18.500.000 habitantes, distribuida en un 50% en población rural. Esta población rural vive dispersa en extensas regiones, sin comunicaciones a veces. De manera que no es tan sencillo poner una campaña a funcionar, y los recursos que se requieren son de otra índole, de características diferentes a los requeridos en otros países. Hemos estado realizando programas regionales, de acuerdo a las posibilidades de las distintas zonas, pero creemos que la solución debe enfocarse dentro de la organización de un programa vertical de tipo nacional. Y para esta empresa requerimos recursos económicos que son cuantiosos dentro de la partida presupuestal que el Gobierno asigna al Ministerio de Salud Pública.

DR. LOPEZ ADAROS — Hace cosa de unos 10 años, en un Jardín Zoológico de Caracas murió un tigre; nosotros estábamos convencidos en aquel entonces de que la causa de la muerte era rabia transmitida por una rata. La estuvimos buscando con bastante interés, haciendo "pools" de cerebros de ratas. Habremos hecho unos 7 "pools" en diferentes lugares del país y nunca hemos encontrado nada. Por eso ha sido una sorpresa que el Dr. Calderón haya dicho que tienen rabia en ratas, y si la memoria no me es infiel, en los últimos 5 años hubo un caso humano mortal atribuido a una rata rabiosa en Colombia.

Otra cosa que quería comentar. Me parece que la masa de los vacunados en los últimos dos años era de poco menos de 60.000, y si allí se cumple la regla que se observa en Venezuela, debían haberse observado unos 10 ó una media docena, o quizás una docena de accidentes neuromusculares, porque veo que hasta el año pasado usaban vacuna Semple. Yo quisiera estar seguro de lo que ocurrió en el último quinquenio.

DR. CALDERON MOLANO — Con mucho gusto, doctor. En relación a las muestras que se han procesado en roedores con resultados positivos para rabia, las mismas corresponden a un número de cinco, una de las cuales fue hallada positiva en 1962, dos en 1965 y dos en 1966.

En relación a los accidentes neuromusculares provocados por la aplicación de la vacuna antirrábica, tenemos la impresión en Colombia de que estas reacciones deben ser sumamente insignificantes; en todo caso, no han llegado a las autoridades sanitarias informaciones

sobre accidentes neuromusculares. Es muy posible que hayan ocurrido pero al no ser de mucha gravedad hayan sido tratados por médicos privados que no reportaron los casos a los servicios oficiales del Ministerio de Salud Pública.

DR. MORA — Yo quisiera preguntar a los colegas de Colombia, respecto a un trabajo aparecido recientemente en el Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. Se habla de una vacunación hecha en Medellín, Antioquía, donde, según los antecedentes que yo poseía, prácticamente no había rabia canina. Y en cambio en la Sabana de Bogotá, donde la incidencia de rabia es bastante alta, tengo entendido que se han suspendido los programas de vacunación.

DR. CALDERON MOLANO — La información que Ud. nos reporta sobre la no existencia de rabia canina en el departamento de Antioquía, en la ciudad de Medellín, yo creo que no se ajusta a la realidad. El departamento de Antioquía precisamente inició ese programa al cual Ud. se refiere en virtud de la alta incidencia de rabia canina y de la gran cantidad de contactos humanos con animales sospechosos de rabia. En cuanto a la vacunación en la Sabana de Bogotá, no ha sido suspendida, sino que se ha disminuído su intensidad en virtud de que los recursos presupuestales de esa dependencia administrativa de Salud Pública han disminuído; además han surgido otros problemas de mayor trascendencia desde el punto de vista de salubridad humana, y por consiguiente los recursos se han destinado a otras necesidades. Pero en ningún momento se ha suspendido esa actividad; se sigue desarrollando aunque a un ritmo menos intenso que en el comienzo del programa.

COSTA RICA

1. INFORMACION BASICA *

Datos de población humana, canina y bovina estimados para 1966

Provincias	Pobl. humana	Pobl. canina ¹	Pobl. bovina ²
San José	535.118	53.511	115.985
Alajuela	267.518	26.751	235.803
Cartago	172.734	17.273	56.829
Heredia	93.075	9.307	29.395
Guanacaste	162.368	16.236	380.144
Puntarenas	179.581	17.958	193.689
Limón	75.112	7.511	39.249
TOTAL	1.485.506	148.550	1.051.094

¹ No existen datos reales; haciendo un sondeo representativo hemos estimado en el 10% de la población humana.

² Son datos de 1963, ya que no existen datos fidedignos de fecha posterior.

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos de rabia confirmados en animales silvestres y domésticos.

Año	Perros	Gatos	Bovinos	Otros
1962	5	0	0	0
1963	0	0	2	0
1964	0	0	0	0
1965	22	1	0	0
1966	17	3	2	0
1967 (hasta 31/VII)	36	0	3	porcino 1 roedores 3 zorro 1 gallina 1

2.2. La rabia se considera enzoótica en la provincia de Guanacaste únicamente; este año, a partir del mes de marzo, avanzó a la Meseta Central y actualmente está bien distribuida por todo este Valle.

2.3. Programas de control de la rabia canina llevados a cabo en los últimos 5 años.

* Ministerios de Agricultura y Ganadería y de Salubridad Pública.

a) Exterminio de perros callejeros: Enero-Agosto de 1967	
Provincia de San José	6.446
Meseta Central	9.475
Pacífico Seco	5.435
Zona Sur	1.063
TOTAL de perros exterminados	22.419

b) Vacunación en una zona delimitando la provincia de Guana-
caste a modo de cordón sanitario. Esto antes de la extensión al Valle
Central. La vacuna usada fue Cepa Flury cultivada en embrión de
pollo. Número de perros vacunados: 1.784.

c) Evitar la migración de perros estableciendo puestos de vigi-
lancia.

d) Localización y tratamiento de personas mordidas.

e) Exámenes de laboratorio de perros y otros animales sospe-
chosos.

f) Campaña educativa del público.

El encargado de la campaña de rabia es el Ministerio de Salu-
bridad Pública, asesorado por la Comisión Nacional de Epizootias.

2.4. No se ha diagnosticado rabia en murciélagos.

2.5. No se ha hecho control de murciélagos hematófagos.

2.6. Un zorro y tres roedores en 1967.

3. RABIA HUMANA

3.1. No ha habido ningún caso de rabia humana en los últi-
mos 5 años.

3.2. Durante 1965, recibieron tratamiento 96 personas. En 1966
se hizo tratamiento en 73 personas.

3.3. Vacuna irradiada (U. V.), suspensión de cerebro con fenol
0,25 % y mertiolato al 1:10.000. Fabricada en Guatemala por el Ins-
tituto Biológico de Salud Pública. Se siguen las recomendaciones del
Comité de Expertos en Rabia de la OMS.

3.4. No han ocurrido accidentes neuroparalíticos postvacunales.

3.5. Sólo hay datos de uso de suero hiperinmune para el año
1967, hasta el 12 de septiembre, con un total de 27 tratamientos.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Un solo laboratorio practica el diagnóstico de la rabia. Se usa el método citológico directo e inoculación en ratones.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

No se producen vacunas ni sueros.

Comentarios

DR. ALVAREZ.— Quisiera preguntar al colega cuáles fueron las medidas adoptadas por el Gobierno de la Nación para obtener esa disminución en el problema de la rabia bovina, ya que en uno de los trabajos presentados a este Seminario he oído la cifra de 132 casos en 1952, dada por Rivera. En realidad impacta la disminución de la incidencia de rabia en el país. Además, en ese mismo trabajo, pareciera que se atribuyen esos casos a la existencia de rabia transmitida por murciélagos; en cambio en este momento parece que la rabia bovina, igual que en Chile, fuera de origen canino.

DR. PIVA.— Para mí fue una sorpresa encontrarme con ese dato de 132 casos de rabia bovina; más sorpresa aún encontrar que la mortalidad anual en Costa Rica está estimada en 10.000 cabezas por año. Costa Rica es un país muy pequeño y, aunque parezca irrisorio, cuando en una hacienda mueren 5 ó 10 cabezas de ganado el Ministerio de Salubridad Pública pone hasta un avión expreso al Departamento de Sanidad Animal para ir a inspeccionar el problema. En los archivos de nuestro laboratorio, único en el país, no existe ningún caso comprobado de rabia bovina a excepción de los informados, que son esporádicos y pareciera ser más bien rabia debida a la mordedura de perros. En Costa Rica realmente no se ha tomado ninguna medida de vacunación masiva de bovinos ni de exterminio de murciélagos hematófagos; actualmente no existe la rabia bovina. Sobre esto yo creo que es interesante que les refiera una investigación que estamos realizando en Costa Rica un grupo de médicos y farmacéuticos de la Universidad, en colaboración con el Ministerio de Agricultura. Hemos encontrado, en la región norte de Guanacaste, en donde por años se ha dicho que existe la rabia paralítica bovina, una planta, la *Meloquia pyramidata*, que pertenece a las malváceas y que causa una sintomatología pseudorrábica. Está todavía en fase de investigación, pero ya hemos logrado aislar de la planta dos alcaloides, uno terciario y el otro cuaternario.

C U B A

1. INFORMACION BASICA *

Datos sobre población bovina y canina

Provincias	Pobl. bovina 1966	Pobl. canina 1967
P.del Río	675.830	35.000
La Habana	476.417	82.000
Matanzas	471.889	31.000
Las Villas	1.515.535	66.000
Camagüey	1.889.718	44.000
Oriente	1.734.820	121.000
T O T A L	6.764.209	379.000

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos positivos de rabia animal por especies

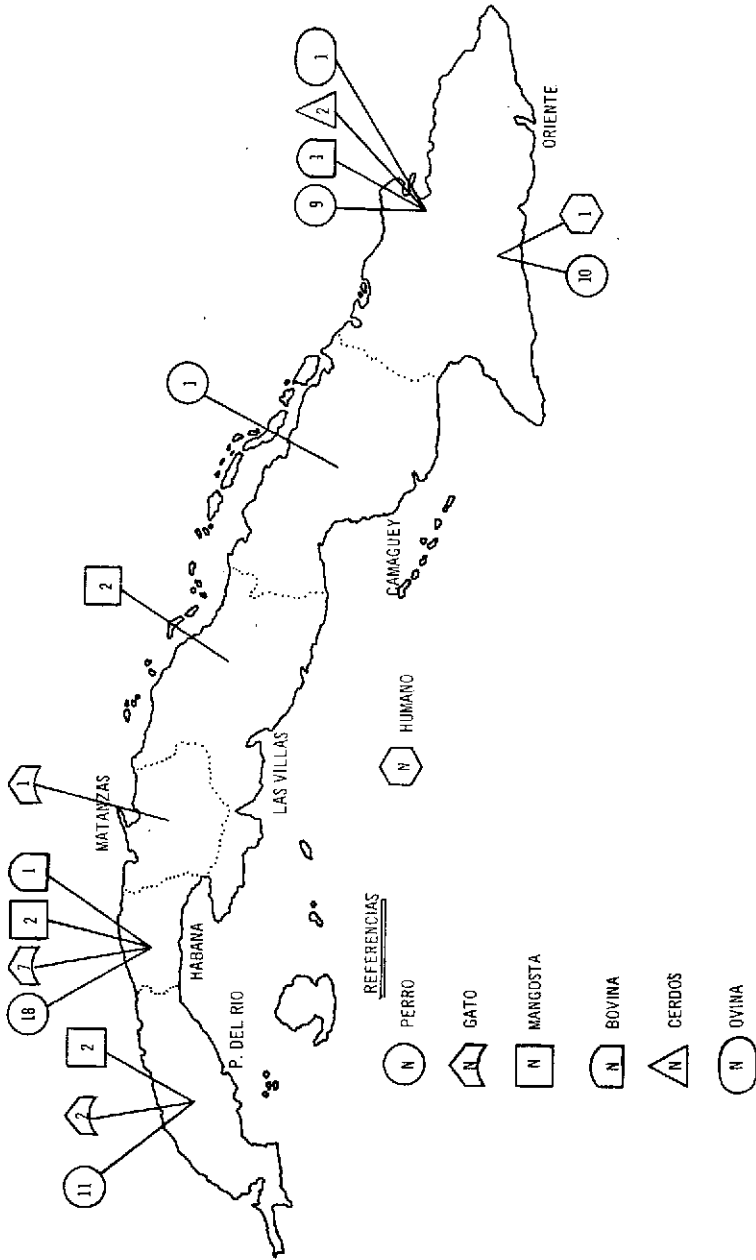
República de Cuba. Años 1962-1966

Especies	1962		1963		1964		1965		1966	
	Pos.	%	Pos.	%	Pos.	%	Pos.	%	Pos.	%
Perros	93	84.5	74	86.3	71	80.6	45	61.6	49	70.0
Gatos	13	11.8	6	6.8	9	10.5	15	20.5	10	14.2
Mangostas	—	—	3	3.6	5	5.6	10	13.6	6	8.5
Cerdos	3	2.8	1	1.1	2	2.2	2	2.7	2	2.8
Vacunos	—	—	1	1.1	1	1.1	1	1.6	2	2.8
Curieles	1	0.9	—	—	—	—	—	—	—	—
Ovejas	—	—	1	1.1	—	—	—	—	1	1.7
TOTAL	110	100.0	86	100.0	88	100.0	73	100.0	70	100.0

2.2. En el mapa adjunto se señalan las provincias donde han ocurrido casos de rabia animal durante el año 1966, indicando las especies.

* Seminario de Zoonosis en Cuba. 6-12 de agosto de 1967.

REPUBLICA DE CUBA. DIAGNOSTICOS POSITIVOS DE RABIA SEGUN PROVINCIA Y ESPECIES. AÑO 1966



2.3. Total de perros vacunados. Cuba. Años 1959 - 1966

Provincias	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966
Pinar del Río	588	1.116	—	588	313	13.041	11.390	18.517
La Habana	23.546	56.891	27.000	16.712	5.495	64.832	5.126	66.980
Matanzas	1.741	3.498	—	—	400	8.548	2.707	4.203
Las Villas	1.535	8.522	832	3.342	172	2.198	4.725	18.269
Camaguey	2.203	10.482	3.305	1.416	1.553	20.491	15.528	3.114
Oriente Norte	1.277	4.954	1.272	—	141	6.969	9.511	6.013
Oriente Sur			3.971	—	7.175	13.070	11.008	38.071
CUBA	30.890	85.463	36.380	28.358	15.249	129.169	59.995	155.167

FUENTE: Departamento de Estadística Nacional.

Perros capturados y perros sacrificados. Cuba. Años 1959 - 1966

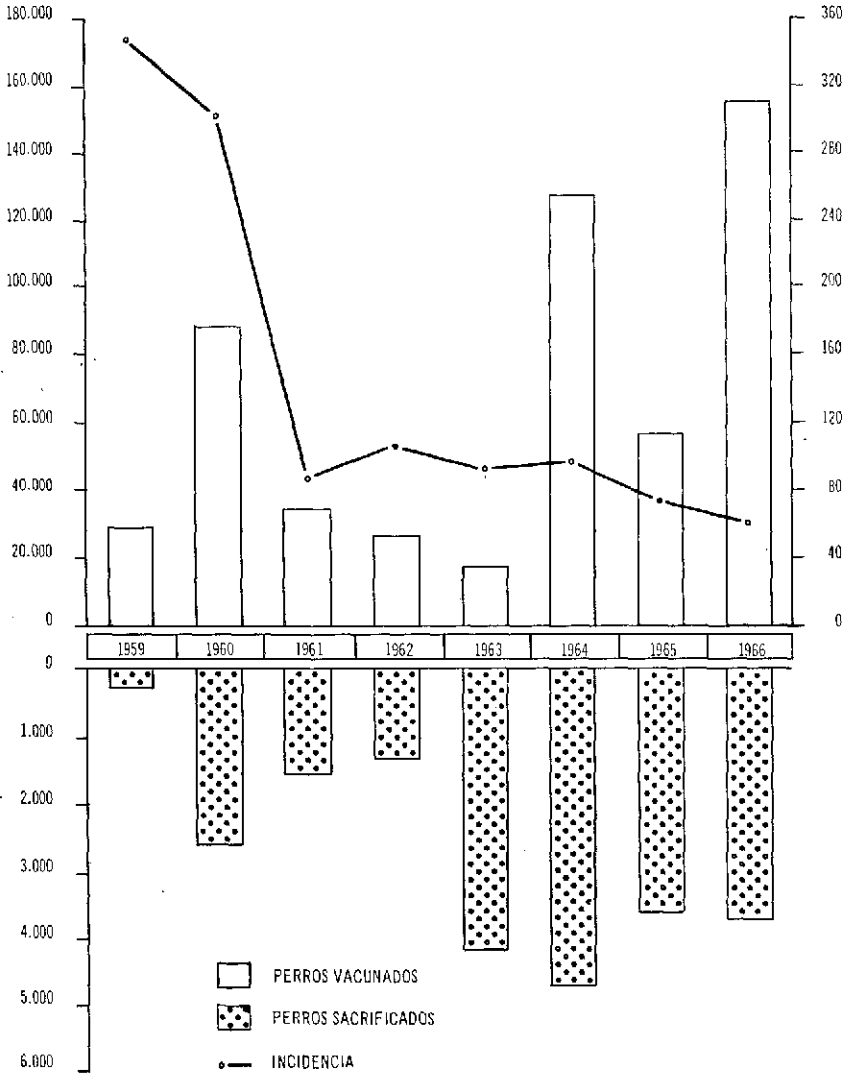
Provincia	1959		1960		1961		1962		1963		1964		1965		1966	
	Capt.		Capt.		Capt.		Capt.		Capt.		Capt.		Capt.		Capt.	Sacr.
Pinar del Río	675	1.098	...	215	1.886	1.374	6.368	98	9.621	179	10.025					
La Habana	2.661	11.551	8.363	5.337	11.829	14.528	9.345	12.650	7.835	5.175	4.324					
Matanzas	2.499	2.351	677	6.616	8.316	4.501	4.667	1.844	3.022					
Las Villas	1.494	4.615	7.120	7.941	5.469	4.669	2.785	1.734	3.264					
Camagüey	2.206	4.982	5.455	1.416	2.688	6.864	12.989	2.882	5.559	1.307	5.307					
Oriente Norte	3.405	2.388	1.183	791	1.780	1.123	1.541	2.753	4.105	112	1.719					
Oriente Sur			642	2.559	8.060	2.682	1.998	1.466	7.483	557	8.783					
CUBA TOTAL	12.940	26.985	15.643	10.318	34.040	41.158	46.086	29.019	35.965	10.908	36.454					

NOTA: No hay datos sobre perros sacrificados de 1959 a 1963, por no llevarse este control; pudiendo calcularse de un 85% al 90% de los capturados.

... No hay información.

FUENTE: Departamento de Estadística Nacional.

INCIDENCIA DE LA RABIA ANIMAL EN RELACION CON PERROS VACUNADOS Y PERROS SACRIFICADOS. CUBA. AÑOS 1959/1966



2.4. En el año 1965 se examinaron 220 murciélagos y en 1966 se examinaron 760. Todos los resultados han sido negativos de rabia.

2.5. Mantenemos vigilancia sobre los quirópteros de Cuba, para lo cual se hace la correspondiente divulgación a fin de lograr la captura y examen de estos animales que se vean volando de día, estén incapacitados de volar de noche o que ataquen a personas o animales.

2.6. En los últimos 5 años se han diagnosticado 24 casos de rabia en mangostas.

3. RABIA HUMANA

3.1.

Casos de rabia humana en la República de Cuba Años 1959 a 1966

Provincia	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966
Localidad								
PINAR DEL RIO Artemisa Cabañas	1	1			1			
HABANA La Habana	1	1			1			
ORIENTE NORTE Puerto Padre Holguín	1 2							
ORIENTE SUR Palma Soriano Guantánamo Alto Songo			1		1			1
TOTAL CUBA	5	3	1	0	3	0	0	1

FUENTE: Departamento de Estadística Nacional.

3.2. **Personas lesionadas, vacunadas, porcentaje de vacunados. Accidentes post-vacunales por provinciales. Años 1962 - 1966**

Provinciales	1962			1963			1964			1965			1966			T O T A L		
	Les.	Vac.	% A	Les.	Vac.	% A	Les.	Vac.	% A	Les.	Vac.	% A	Les.	Vac.	% A	Les.	Vac.	% A
P. del Rio	1120	501	45.0	747	309	41.3	979	372	37.8	778	114	14.6	1041	127	12.1	4665	1426	30.5
Habana	2957	87	2.9	3039	98	3.2	3490	404	11.2	3287	825	25.2	4442	648	14.5	13988	2057	14.0
Matanzas	1180	85	7.2	280	58	2.7	1064	143	13.4	724	103	14.2	1013	175	17.2	4263	564	13.2
Las Villas	1578	115	7.4	1487	98	6.5	1669	115	6.8	1355	125	9.2	1442	78	5.4	7651	545	7.2
Camaguey	1600	220	13.7	663	131	16.1	809	170	21.1	1334	74	5.5	880	71	8.0	5286	676	12.7
Oriente N.	800	96	12.0	611	57	9.3	689	58	8.4	612	150	20.4	571	74	12.7	3283	435	13.2
Oriente S.	1954	436	22.3	2626	207	7.7	2172	308	14.1	2181	365	16.6	2482	313	12.6	11415	1753	15.3
Total Cuba	11189	1530	12.9	9373	958	10.4	10872	1570	14.4	10271	1756	17.1	11871	1486	12.5	73529	7483	10.1

FUENTE: Dirección de Epidemiología Nacional.

3.3. Vacuna de tejido nervioso de carnero, en solución al 20% (Semple).

3.4. De 1962 a 1966 se han producido 5 casos de parálisis en un total de 7.483 personas vacunadas. (Ver 3.2.)

3.5. Se aplica suero hiperinmune en los casos que lo requieran.

4. DIAGNOSTICO

Laboratorios de Diagnóstico

4.1. El nivel nacional es atendido por el Laboratorio de Zoonosis de La Habana, asesorado por el Responsable Nacional de Zoonosis y con la cooperación del Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Este Laboratorio, además de las funciones asignadas a las Provinciales realiza las pruebas biológicas de todos los casos de Cuba, así como otros trabajos: sero-neutralización y se viene estudiando la realización de la prueba de los anticuerpos fluorescentes.

Los *Laboratorios Provinciales* hacen el diagnóstico clínico de los animales correspondientes a la capital de Provincial, así como el diagnóstico histopatológico de todos los casos de la provincia, remitiendo muestras al Laboratorio de Zoonosis de La Habana.

Como información adicional al diagnóstico señalamos que se está dotando a cada Area de Salud de Unidades de Observación para hacer el diagnóstico clínico de los animales, tan necesario para excluir del tratamiento a muchos lesionados. A medida que el Programa de Erradicación avanza se logra bajar los porcentajes de positividad, haciéndose necesario detectar, para su eliminación, las fuentes de reinfección.

La necesidad de mejorar el diagnóstico, por las razones antes expresadas, nos inspiraron la sugerencia de modificar las técnicas de laboratorio usando el ratón lactante, que se considera más sensible a ciertas cepas de virus de calle.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. Toda la vacuna para uso humano que se aplica en el país es fabricada por el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, utilizando el carnero sometido previamente a una cuarentena en que es examinado y sometido a pruebas por médicos veterinarios. Una vez declarados aptos para la elaboración de la vacuna, son inoculados en dicho Instituto, de donde no sale la vacuna a la distribución hasta que el Laboratorio de Control no da el lote como satisfactorio. El método usado es el de Semple y la dosis $\frac{1}{2}$ cc. de una emulsión de cerebro al 20%, durante 14 días.

Vacuna antirrábica producida por el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. República de Cuba. Años 1963 - 1966

	1963	1964	1965 (*)	1966
Vacuna humana	3.275	2.988	1.121	3.422
Vacuna veterinaria	7.787	7.312	1.149	948

FUENTE: Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología.

NOTAS: (*) Segundo semestre.

5.2. Hasta el año pasado se estaba importando la vacuna antirrábica canina de los Laboratorios Bioveta, de Checoslovaquia (vacuna de tejido nervioso, de carnero, a virus vivo). En el presente año, además de la vacuna de importación que vamos a usar en pequeñas cantidades, los Laboratorios de Producción Veterinaria del Instituto de Veterinaria fabricarán 300.000 dosis de vacunas de embrión de pollo, liofilizada. Esta vacuna, además de ser aceptada por el Laboratorio de Control del propio Laboratorio que la elabora, no sale a la distribución hasta que el Laboratorio de Control Estatal declara satisfactorias las pruebas a que las somete, de acuerdo con lo normado por la Organización Mundial de la Salud.

5.3. Cada lote de vacuna es objeto de las siguientes pruebas: analítica, esterilidad, inocuidad y antigenicidad, de acuerdo con las normas de la Oficina Sanitaria Panamericana (Organización Mundial de la Salud).

5.4. Como no han podido establecerse las condiciones para la fabricación de suero antirrábico hiperinmune, se está importando la gamma globulina de la URSS.

Comentarios

DR. PORZECANSKI — Los que estamos aquí presentes y trabajamos en epidemiología, envidiamos a los cubanos su situación isleña. Cualquier esfuerzo, cualquier sacrificio que hagan vale la pena, porque ellos sí pueden hablar con justicia de la esperanza de la erradicación de cualquier zoonosis. Yo les deseo éxito y creo lo obtendrán, porque en la posición geográfica que tienen pueden alcanzar lo que muchas islas ya han conseguido, es decir, la erradicación definitiva de la rabia.

DR. MARTINEZ — Nosotros quisiéramos expresar al compañero de Uruguay que lo que hay que lograr es que se haga un verdadero programa continental para evitar los problemas que están surgiendo en las fronteras en el momento actual.

DR. LOPEZ ADAROS — Yo creo que el Dr. Martínez no ha querido decirlo aquí, pero lo fundamental es que el programa de zoonosis tiene detrás un servicio nacional de salud que es único, una de las curiosidades latinoamericanas. Aquí hemos visto los problemas que surgen con la organización de otro tipo —organizaciones municipales, provinciales, estatales— que complica mucho la situación. En cuanto a la vacuna Semple me llama la atención la proporción tan alta (1 por cada 1.500 vacunados) de accidentes neuromusculares; otra cosa que me sorprende es el tipo de accidentes, tan benigno. ¿No hubo algún cuadro de polio o radiculoneuritis, Guillain-Barré, entre ellos?

DR. MARTÍNEZ — Para contestar al Dr. López, de Venezuela, le diré en primer lugar que todos los accidentes registrados son verdaderamente postvacunales. Todos han sido perfectamente investigados, pues existe una comisión a nivel nacional y a todos los niveles provinciales y regionales de salud, dedicada al estudio de todos los casos neurológicos. Esta comisión funciona desde que iniciamos la campaña contra la poliomielitis y ha sido quien nos ha permitido hacer esta depuración exacta de los 5 casos que aparecen en nuestro informe. Con respecto a la estructura organizativa de nuestro Ministerio de Salud, todas las acciones de salud son responsabilidad única de dicho ministerio. Para cubrir el territorio nacional se organiza en provincias, en regiones y en áreas de salud. Las áreas de salud se subdividen a su vez en sectores de salud, de 3 a 5 mil habitantes. Como el programa de erradicación de la rabia es de carácter nacional, funciona a nivel de todas y cada una de dichas áreas.

CHILE

1. INFORMACION BASICA *

Población humana, canina y bovina estimada para 1966:

PROVINCIAS	E S P E C I E		
	Humanos	Caninos (*)	Bovinos (**)
PAIS	8.884.305	888.430	2.870.171
Tarapacá	154.918	15.491	3.736
Antofagasta	248.942	24.894	859
Atacama	156.348	15.634	9.836
Coquimbo	326.491	32.649	86.375
Aconcagua	172.354	17.235	53.715
Valparaíso	743.146	74.314	53.633
Santiago	3.183.214	318.321	175.928
O'Higgins	287.057	28.705	94.364
Colchagua	171.604	17.160	94.747
Curicó	126.901	12.690	47.978
Talca	227.066	22.706	76.970
Linares	200.126	20.012	101.522
Maule	88.223	8.822	37.404
Ñuble	318.359	31.835	148.502
Concepción	651.928	65.192	52.257
Arauco	102.658	10.265	90.082
Bío-Bío	205.870	20.587	138.133
Malleco	193.513	19.351	165.890
Cautín	437.329	43.732	370.126
Valdivia	294.368	29.436	337.315
Osorno	154.071	15.407	270.367
Llanquihue	207.741	20.774	212.633
Chiloé	100.905	10.090	99.266
Aysén	41.143	4.114	102.243
Magallanes	90.030	9.003	46.290

(*) Estimación. En encuesta realizada en la Capital, la proporción fue de 1 perro por cada 10 habitantes. Censos caninos a nivel nacional no se han realizado.

(**) Ultimo Censo Agropecuario nacional.

* Servicio Nacional de Salud.

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos de rabia confirmados por laboratorios en perros, gatos, bovinos y otros animales domésticos

Año	Total	Especie *						
		Perros	Gatos	Bovinos	Ovinos	Caprinos	Equinos	Porcinos
1962	435	373	24	29	—	1	4	4
1963	242	203	11	20	2	6	—	—
1964	224	181	8	26	1	2	3	3
1965	147	126	4	16	1	—	—	—
1966	82	60	5	7	—	—	5	5

* En este quinquenio no se han diagnosticado casos de rabia silvestre. Los datos aquí consignados corresponden exclusivamente a diagnósticos de laboratorio.

2.2. La rabia es enzoótica entre las provincias de Aconcagua y Valparaíso (paralelo 33°) por el norte, y la de Cautín (paralelo 39°) por el sur.

2.3. Los programas de control de rabia son ejecutados por el Servicio Nacional de Salud.

Brote de rabia en el extremo norte:

Arica: Caso único en perro. Julio de 1965. Población estimada del sector amagado: 8.500 perros. Se eliminan 3.600 con veneno y se vacunan 4.250. Control definitivo.

Antofagasta: Aparecen los primeros casos en febrero de 1962 y el último en abril de 1966. Se realizan vacunaciones cada 2 años y se eliminan perros en baja proporción, debido a reacciones comunitarias. Está controlada desde hace 16 meses.

Zona comprendida entre el paralelo 33° y 35°: (Desde Valparaíso y Aconcagua a Colchagua, inclusives). Se producía aquí el 83% de los casos de rabia del país en 1961 (Chile: 554 casos, Zona: 462 casos). En 1966 disminuye al 61% (Chile: 82 casos, Zona: 50 casos).

El total de casos de rabia animal para el país sufre una reducción notable, considerando los mismos años como ejemplo: de 554 casos en 1961, se confirman 82 en 1966 (14,8%). En la misma zona, la provincia de Santiago que registró 281 casos en 1961, exhibe 32 en 1966 (11,38 %). Es notable el descenso en Valparaíso donde, de 114 casos en 1961 se confirmaron 4 en 1966, con una reducción al 3,5 %.

Control: Se ha fundamentado principalmente en inmunizaciones masivas realizadas desde 1962 en toda la zona desde Aconcagua a Colchagua, para lo cual se ha contado con recursos especiales. Las vacunaciones se han efectuado cada dos años, dando preferencia a los centros densamente poblados. Debe destacarse que la provincia de Valparaíso ha sido tratada con igual acuciosidad tanto en el medio urbano como en el rural. La vacuna utilizada es preparada en el Instituto Bacteriológico.

En Santiago y Valparaíso existe sistema de recolección de perros con perreras; en la primera provincia no se utiliza veneno, pero es empleado como método de eliminación de perros vagos en el resto del país, inclusive en áreas donde no existe rabia.

Anualmente son eliminados unos 55.000 perros en el país, un 54% de este total corresponde a la provincia de Valparaíso y a la de Santiago.

Zona entre el paralelo 35° y el 39° (Curicó a Cautín): Constituye el resto del problema. Presenta dificultades climáticas y camineras para el control de la rabia. Se ha tratado focalmente y están en marcha, para su realización en 1967-68, programas de inmunización masiva.

2.4. No existe rabia transmitida por murciélagos hematófagos, aún cuando se describe la existencia de vampiros en la región costera, desde el extremo norte hasta la zona central. En el caso de los bovinos y equinos muertos con diagnóstico de rabia, la enfermedad siempre tiene su origen en el perro. No se efectúan programas regulares de vacunación, pero para proteger ganado en hatos que han sufrido la agresión de un perro hidrófobo se usa vacuna preparada en cerebro de ratón lactante, suspendida en hidróxido de aluminio.

2.5. No se ha hecho control de murciélagos hematófagos.

2.6. Se diagnosticó un caso en zorro en 1960.

3. RABIA HUMANA

3.1. En 1962 se confirmaron por laboratorio 3 casos humanos de rabia; en 1963, 2 casos; en 1964, 3 casos; en 1965, 1 caso y en 1966, 1 caso. Ninguno de ellos recibió tratamiento.

3.2. Personas mordidas y tratadas en Chile 1965-66:

Personas	1965	1966
Mordidas	44.704	38.636
Tratadas	10.632	7.723

3.3. La única vacuna usada es la preparada en cerebro de ratón lactante e inactivada por irradiación. Las indicaciones para el tratamiento fluctúan entre 10, 14 ó 21 dosis, según se trate de contactos, mordeduras en tronco o extremidades o mordeduras en cabeza y cuello (se acompaña esquema de vacunación utilizado en el país).

3.4. No se han observado accidentes neuroparalíticos postvacunales.

3.5. No se ha usado suero antirrábico hiperinmune.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Solamente el Instituto Bacteriológico realiza el diagnóstico de la rabia. Investigan corpúsculos de Negri, usan tinción de Sellers y practican inoculación en ratones. No se realiza el diagnóstico por inmunofluorescencia.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. El país se autoabastece con su producción de vacunas para uso humano. Toda la vacuna es producida por el Instituto Bacteriológico (Laboratorio oficial). Producción de vacuna irradiada preparada en cerebro de ratón lactante:

1965 — 15.861 cajas ó 158.610 ampollas de 2 cc.

1966 — 15.122 cajas ó 151.220 ampollas de 2 cc.

5.2. Un solo laboratorio prepara la vacuna para uso animal en el país, el Instituto Bacteriológico. Se emplea la misma vacuna que para uso humano. Producción:

1965 — 65.980 frascos de 4 dosis ó 263.920 dosis

1966 — 69.675 frascos de 4 dosis ó 278.700 dosis

En pequeñas partidas se ha estado preparando recientemente la misma vacuna en hidróxido de aluminio, para uso en bovinos.

5.3. Pruebas de potencia: Desde 1962 a 1964 se usó el método NIH. Desde 1965 el método de Habel.

Pruebas de inocuidad: Por inoculación intraperitoneal e intracerebral en ratones.

Frecuencia: Se prueba cada lote.

5.4. Se prepara suero antirrábico hiperinmune, pero no se emplea en el país. El método utilizado es el de hiperinmunización incompleta en equinos.

ESQUEMA DE LA VACUNACION ANTIRRABICA

VIA SUBCUTANEA

Lugar de la mordedura	Animal que puede observarse vivo		Animales que resultan positivos al examen de laboratorio.
	Aparentemente normal	Sospechoso	
Cabeza y cuello	1 ampolla cada 3 días. Si el animal está sano, suspender el tratamiento; si pasa a ser sospechoso o clínicamente rabioso completar tratamiento con 1 ampolla diaria hasta completar 21.	1 ampolla diaria. Si el animal está sano al 10º día, suspender; en caso contrario, completar con 1 diaria hasta 21 ampollas.	1 ampolla diaria hasta completar 21. Duración: 21 días.
Tronco y Extremidades *	NO VACUNAR. Esperar resultado de la observación al 10º día. En caso de ser clínicamente rabioso, iniciar tratamiento con 1 dosis diaria. Completar 14.	1 ampolla cada 3 días. Esperar resultado de la observación del animal al 10º día. En caso positivo, completar tratamiento de 14, con 1 diaria.	1 ampolla diaria hasta completar 14. Duración: 14 días.
Contactos (personas no mordidas). Administración de medicamentos, lamidos, manipulación de muestras de animales rabiosos, etc.	NO VACUNAR: Esperar resultado observación.	1 ampolla cada 3 días. Esperar resultado de la observación al 10º día. En caso positivo, completar a 10, con 1 diaria.	1 ampolla diaria hasta completar 10. Duración: 10 días.

(*) Las personas mordidas con lesión profunda en la zona del tendón de Aquiles deberán ser tratadas como las mordidas en cabeza y cuello.

NOTA: Estas normas rigen incluso para los niños menores de seis meses. La vacuna no tiene contra indicaciones. Debe recomendarse especialmente a los tratados que no deben hacer ejercicios físicos violentos ni excederse en las bebidas alcohólicas. Los casos no contemplados en el presente esquema serán resueltos de acuerdo a las normas que, para la atención de personas expuestas al riesgo de contraer hidrofobia, ha preparado la Sección Epidemiología de la Dirección General.

Comentarios

DR. DA SILVA — Me gustaría saber si han hecho algún trabajo de investigación en murciélagos en Chile.

DR. ALVAREZ — No se ha hecho ningún trabajo. No tenemos rabia en bovinos ni en otras especies en todo el sector costero, donde hay murciélagos.

DR. LOURES — Me interesaría conocer, primero, el esquema de tratamiento que están usando con la vacuna del Dr. Fuenzalida, y en segundo lugar, los títulos obtenidos con la prueba de Habel.

DR. ALVAREZ — Con respecto a la primera pregunta, nosotros utilizamos: en mordidos en cabeza y cuello, por perro no observable o muerto en condiciones sospechosas, 21 dosis; en los mordidos en el tronco y extremidades, 14 dosis en las mismas condiciones; y para contactos (no mordidos) con animales muertos presuntivamente por rabia o por causas desconocidas, o que no pueden observarse, se aplican 10 dosis. Cuando ocurre una mordedura existe todo un sistema sincronizado que permite ubicar al mordido, el cual generalmente concurre a las postas para la atención de la herida y luego el vacunatorio del área de salud se encarga de transmitir a la Oficina de Zoonosis la dirección del perro mordedor, el cual es sometido a observación en la gran mayoría de los casos (hay algunos domicilios imposibles de identificar). Si a los 10 días el animal mordedor está sano se suspende la vacunación.

DR. ACHA — Dr. Fábrega, ¿quisiera Ud. contestar la segunda pregunta?

DR. FABREGA — Tengo acá un resumen de la titulación de potencia por el método de Habel de todas las partidas elaboradas durante el presente año. El título mínimo ha sido sobre 100.000 DL₅₀ y un máximo de 977.000 DL₅₀, con la vacuna diluida en 10 veces su volumen.

DR. BAER — En vista del efecto tan benéfico del suero hiperinmune equino, ¿por qué no se emplea en Chile?

DR. FABREGA — El suero antirrábico no se utiliza en Chile por dos motivos: en primer lugar, la vacunación de la persona mordida se realiza generalmente el mismo día en que es afectada por la lesión; y en segundo lugar, para evitar el riesgo de perder potencia con el suero antirrábico. Se ha utilizado suero una sola vez, en un caso extremo.

DR. MORA — Una de las razones por las cuales no se usa suero hiperinmune en Chile es que no tenemos fracaso de la vacuna. En toda la historia de la vacuna de ratón lactante, desde el año 1958 en que se inicia experimentalmente en el Instituto Bacteriológico, no ha habido ningún caso de fracaso de la vacuna, lo cual justificaría el uso del suero hiperinmune, que también tiene algunos inconvenientes.

DR. ACHA — Dr. Fuenzalida, ¿en qué período de tiempo produce la vacuna un título de anticuerpos que consideraríamos alto, después de la aplicación de la primera dosis?

DR. FUENZALIDA — En los estudios que se han hecho en el Centro Panamericano de Zoonosis, hemos encontrado que a los 10 días hay un nivel bastante alto de anticuerpos. Con 3 dosis aplicadas día por medio se han obtenido niveles de 1 por 80, 1 por 70, frente a 50 DL₅₀ en ratones. En cuanto a la aplicación de dosis continuas todavía no tengo hecho ningún estudio.

DR. VILCHES — Por supuesto que para la “filosofía” de la aplicación del suero, usando el término en el sentido más generalmente empleado por los americanos, puede pensarse en varias posibilidades, pero me parece que hay 2 que merecen ser consideradas especialmente. Una, la acción local del suero, que al neutralizar el virus en la herida impide su penetración en las células sensibles, antes de que esto ocurra; y otra, que cuando se lo administra inmediatamente después o en las primeras horas posteriores a la herida, se logra también una circulación de anticuerpos que muy precozmente impide la penetración a nuevas células, si ha tenido lugar una primera generación de infección celular. De todas maneras resulta muy interesante la información suministrada por el Dr. Fuenzalida, ya que significa que uno puede tener anticuerpos muy precozmente. Eso no quiere decir que, en condiciones de extrema accesibilidad a células sensibles, como pasa en tejidos sumamente inervados como los de la cabeza, etc., el suero no deba tal vez ser administrado, en particular localmente y luego en forma general o parenteral, con el fin de hacer una barrera inicial que disminuirá, de todos modos, el muro de partículas víricas vivas que representan un riesgo para el sujeto mordido.

DR. PORZECANSKI — En todos los informes que se han leído, y también en el que va a presentar el Uruguay, aparecen lamentablemente casos de muerte por rabia, no por fracaso del tratamiento, ni por falta de suero, ni por falta de vacuna, ni por falla de diagnóstico, sino porque el mordido no concurre a ver al médico. En algunos países ese número es muy grande y yo creo que no se le ha dado al problema la importancia que merece. Ese número de muertes sin tratar es una especie de índice que traduce la cultura y la organización sanitaria de un pueblo. Yo creo que no debemos olvidar que la lucha antirrábica no sólo consiste en vacunar y aplicar el suero y hacer diagnósticos, sino que la acción sanitaria educativa es también obligatoria y debe estar ligada a cada servicio antirrábico.

DR. ALVAREZ — Con respecto a lo que dice el Dr. Porzecanski, yo quisiera hacer notar que los pocos casos registrados en Chile han ocurrido en zonas rurales donde casi no llegan los beneficios del Servicio Nacional de Salud. Las autoridades sanitarias del país han tomado medidas para que todos aquellos casos de personas mordidas

que llegan al conocimiento del Servicio de Salud sean obligadas a recibir tratamiento si es necesario, y si no lo hacen así el Servicio está facultado, según el código sanitario, para hospitalizar a la persona durante todo el tiempo que dure el tratamiento. El procedimiento es caro si se tiene en cuenta el costo actual de una cama hospitalaria, pero ante la amenaza de hospitalización generalmente todos se tratan. Los casos enumerados en el informe han estado fuera del control del Servicio.

DR. LOURES — Insisto en que este Seminario debería dar una indicación precisa sobre la aplicación del suero.

DR. ACHA — Entonces preguntaremos a quien creo que sabe más de esto. ¿Dr. Habel?

DR. HABEL — Yo creo que esta cuestión del suero y la vacuna es sumamente importante y debe ser tratada tan detalladamente como fuere posible. Estamos enfrentando una situación nueva, en vista del hecho de que la vacuna de ratón lactante de Fuenzalida es, probablemente, la vacuna antirrábica más potente que tenemos hoy día. Sería interesante, sin embargo, ahora que la vacuna Fuenzalida está siendo más y más empleada, controlar si esta ausencia completa de fallas de tratamiento continúa observándose en países con mayor cantidad de personas expuestas. Como Uds. saben, el uso del suero antirrábico junto con la vacuna surgió del hecho de que buenas vacunas —vacunas que han pasado la prueba de potencia con valores altos— al ser empleadas en ciertas zonas con gran número de exposiciones severas no daban ningún resultado y el porcentaje de mortalidad por rabia era el mismo que en personas no tratadas. En otras palabras, alrededor del 40-50% de las personas que recibían tratamiento completo con esas buenas vacunas morían de rabia mientras que, en condiciones similares y en las mismas regiones (principalmente Irán y Turquía), también moría el 50 % de los que no habían recibido tratamiento alguno. Con la introducción del suero para acompañar a la vacuna, bajo las mismas condiciones, la incidencia de fallas ha disminuído prácticamente a cero. Esta misma situación ha sido observada en otros lugares del mundo, particularmente en Rusia, donde previamente mordeduras severas, tratadas con una buena vacuna, presentaban un alto número de fallas. Con el uso de antisuero y vacuna estas fallas han sido reducidas a cero. Yo creo que la gente de Chile tiene mucha razón en continuar usando vacuna sola mientras que sigan obteniendo buenos resultados. Cuando registren la primera falla deberán reconsiderar la situación con respecto al empleo del suero. Para el resto de nosotros, yo creo que suponer que todas las vacunas, aún las de tipo Fuenzalida, preparadas en todos los laboratorios, son capaces de dar tales resultados sería un gran error. De manera que, en mi opinión, hasta que cada uno adquiera experiencia con sus vacunas, en la situación particular de cada región, debe seguirse la recomendación de emplear suero y vacuna.

R E P U B L I C A D O M I N I C A N A

1. INFORMACION BASICA *

Datos sobre población humana y bovina estimada para 1966

PROVINCIAS	Población humana	Población bovina
Distrito Nacional	564.200	52.068
La Altagracia	84.700	76.733
Azua	90.300	19.245
Baoruco	64.100	5.598
Barahona	97.100	17.762
Dajabón	50.800	21.292
Duarte	197.000	43.952
Españillat	152.600	30.268
Estrelleta	52.900	12.706
Independencia	33.800	9.339
María Trinidad Sanchez	88.600	39.868
Monte Cristi	72.800	25.819
Pedernales	10.700	3.781
Peravia	131.000	21.857
Puerto Plata	198.000	91.245
La Romana	45.500	
Salcedo	96.000	6.163
Samaná	52.200	13.082
San Cristóbal	306.100	110.587
San Juan de la Maguana	184.900	50.963
San Pedro de Macorís	84.600	43.656
Sánchez Ramírez	109.500	32.829
Santiago	354.500	56.540
Santiago Rodríguez	49.400	19.467
El Seybo	147.700	102.611
Valverde	73.000	16.949
La Vega	284.100	77.759
T O T A L	3.697.000	1.002.139

Población canina: A pesar de no haberse realizado ningún censo al respecto, estimamos según la fórmula de "un perro por cada 10 habitantes"; tendríamos así una población canina de unos 360.000 perros, aproximadamente.

* Secretaría de Estado de Salud y Previsión Social.

2. RABIA ANIMAL

2.1. En el cuadro anexo detallamos los casos de rabia en animales, confirmados por el Laboratorio Nacional, registrados durante los últimos años.

Casos de rabia confirmados en el Laboratorio de Salud Pública "Dr. Delfillo"

ESPECIE	1962		1963		1964		1965		1966	
	Pos.	%	Pos.	%	Pos.	%	Pos.	%	Pos.	%
Perros	60	61,8	20	51,2	35	39,8	66	50,8	101	59,0
Gatos	2	25,0	2	40,0	—	—	3	23,0	5	35,7
Cerdos	2	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Bovinos	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Caprinos	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—

2.2. Se consideran áreas enzoóticas las siguientes: Distrito Nacional, Santiago, Valverde, Puerto Plata, San Juan de la Maguana, San Cristóbal, San Pedro de Macorís, Barahona.

2.3. El programa que ha sido llevado a cabo para el control de la rabia canina en los últimos 5 años, está basado en las recomendaciones de la Oficina Sanitaria Panamericana:

- a) Eliminación del perro callejero.
- b) Vacunación de los perros con dueños.
- c) El programa fue elaborado y dirigido por la Sección de Zoonosis de la Secretaría de Estado de Salud y Previsión Social y puesto en ejecución con la colaboración del personal debidamente adiestrado, de los Centros, Subcentros y Oficinas Sanitarias de los Servicios Provinciales y Locales de Salud, habiendo abarcado las zonas siguientes: El Distrito Nacional, provincia de La Altagracia, Azua, Barahona, Monte Cristi, Peravia, Puerto Plata, La Romana, Samaná, San Cristóbal, San Juan, San Pedro de Macorís, Santiago, El Seybo, Valverde y La Vega.

El número de *perros eliminados* fue de 55.753, y el de *perros vacunados* fue de 17.273, comprendiendo ambas cifras, la labor durante los años de 1962 a 1966.

En este programa fueron usadas para la vacunación de los perros vacunas avianizadas de tipo liofilizado, procedente de los Laboratorios Port Dodge, Cyanamid, Jensen-Salsbery y Connaught.

2.4. Hasta la fecha no ha sido comprobada la rabia transmitida por vampiros.

2.5. No se ha realizado hasta el momento ningún tipo de control de murciélagos hematófagos.

2.6. Mediante exámenes de laboratorio no se ha comprobado ningún caso de rabia en animales silvestres, a pesar de que en 1961 se atribuyó la muerte de una persona a la mordedura de una mangosta presumiblemente rabiosa, que no pudo ser localizada para fines de examen.

3. RABIA HUMANA

3.1. Los casos de rabia humana notificados durante los últimos cinco (5) años se detallan a continuación:

1962	1963	1964	1965	1966	1er. semestre 1967
2	1	7	11	3	1

Solamente los casos registrados en 1962 fueron comprobados por el laboratorio; los demás fueron diagnósticos clínicos. Podemos señalar que ninguno de los casos recurrió a los servicios médicos y, por lo tanto, no fueron sometidos al proceso de vacunación. Por otra parte hemos observado que no se ha informado ningún caso que haya recibido la vacunación.

3.2. El número de personas atendidas a consecuencia de mordeduras por animales y el número de personas que recibieron tratamiento antirrábico durante los últimos cuatro años, se expone a continuación:

Años	Nº de personas atendidas	Nº de personas vacunadas
1963	526	175
1964	1229	217
1965	2245	359
1966	3726	567

3.3. El tipo de vacuna utilizada es la de embrión de pato de laboratorios Lilly y la guía de tratamiento ha sido a base de 14 dosis de 1 cc. diario. Recientemente fue utilizada una partida de vacuna Fuenzalida-Palacios, procedente del Instituto Oswaldo Cruz.

3.4. Hasta la fecha no se ha observado, ni reportado, ningún caso de accidente neurológico post-vacunal.

3.5. En circunstancias especiales, cuando el caso así lo requiere, se utiliza suero antirrábico hiperinmune.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Un solo laboratorio, el Nacional de Salud Pública, realiza el diagnóstico de la rabia, utilizando los métodos siguientes:

- a) Investigación microscópica de los corpúsculos de Negri en cortes de cerebros, utilizando el colorante de Sellers.
- b) Inoculaciones intracerebrales en ratones blancos.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

Hasta la fecha no existe ningún laboratorio dedicado a la elaboración de vacunas y sueros de ningún tipo.

E C U A D O R

1. INFORMACION BASICA *

Año	P O B L A C I O N		
	Humana	Canina	Bovina
1966	5.091.669	565.741	1.555.938

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos de rabia en animales confirmados por laboratorio:

1962	—	122
1963	—	80
1964	—	68
1965	—	249
1966	—	192

2.2. Las áreas donde la rabia se considera enzoótica son:

- Provincia del Guayas, 21.259 Km²
- Provincia de Pichincha, 16.762 Km²
- Provincia de Azuay, 7.799 Km²
- Provincia de Carchi, 3.582 Km²

2.3. De acuerdo con la estructura del Servicio Nacional de Salud, el programa de control de la rabia canina ha sido ejecutado bajo la dirección del Departamento de Rabia de la División Nacional de Epidemiología y por las Jefaturas Provinciales de Salud que están a nivel regional. La ejecución del programa, debido a deficiencias económicas, ha sido limitada, cubierto en forma parcial el territorio nacional.

Perros eliminados	Año	Perros vacunados
23.392	1962	6.569
21.548	1963	4.631
27.608	1964	4.738
31.299	1965	4.805
33.431	1966	5.515

Vacuna: tipo Simple (fenolada).

* Delegados al Seminario.

2.4. No se ha establecido la existencia de rabia transmitida por vampiros y no existen datos sobre vacunación de bovinos.

2.5. No se ha hecho control de murciélagos hematófagos.

2.6. No existen datos respecto a casos de rabia en otros animales silvestres excluyendo vampiros.

3. RABIA HUMANA

3.1.

Casos de rabia humana durante los últimos 5 años.

Año	Número de casos positivos en personas	Comprobación por laboratorio
1962	20	2
1963	16	1
1964	18	1
1965	15	0
1966	12	1
TOTAL	81	5

De las 81 personas fallecidas por rabia, sólo iniciaron tratamiento 3, las cuales lo abandonaron. Corresponde 1 al año 1964 y 2 a 1965.

3.2. Personas atendidas y tratadas durante 1965-66:

1965	3.817 atendidas	1.834 tratadas
1966	3.907 atendidas	1.814 tratadas

3.3 Se usa vacuna tipo Semple. Pauta de tratamiento recomendada por la OMS.

3.4. No se han observado accidente neuroparalíticos postvacunales.

3.5. Se ha usado suero antirrábico hiperinmune.

4. DIAGNOSTICO

4.1. El Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez", por medio de sus laboratorios provinciales, realiza el diagnóstico de la rabia. Utilizan: a) examen directo (Sellers), b) inoculación en ratones.

5. PRODUCCION DE VACUNA Y SUERO

5.1. El Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez" produce vacuna Semple para uso humano; aproximadamente 3.000 tratamientos anuales.

5.2. El Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez" produce vacuna Semple (fenolada) para uso canino (aproximadamente 7.952 dosis) y los laboratorios "Life" producen vacuna canina en embrión de pollo (12.000 dosis) y bovina en embrión de pollo (3.000 frascos de 10 cc.).

5.3. En el Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez" cada lote de vacuna es sometido a la prueba de Habel.

5.4. No se produce suero antirrábico hiperinmune.

EL SALVADOR

1. INFORMACION BASICA *

**Datos sobre población humana, canina y bovina,
estimada para 1966.**

DEPARTAMENTO	Pobl. humana	Pobl. canina	Pobl. bovina
Ahuachapán	147.433	14.743	39.321
Santa Ana	299.342	29.934	64.107
Sonsonate	190.071	19.007	51.040
Chalatenango	147.112	14.711	103.496
La Libertad	231.902	23.190	58.684
San Salvador	532.287	53.229	42.564
Cuscatlán	127.483	12.748	45.349
La Paz	150.700	15.070	60.568
Cabañas	108.715	10.871	47.290
San Vicente	127.988	12.799	51.840
Usulután	238.758	23.876	68.925
San Miguel	265.622	26.562	109.778
Morazán	135.816	13.582	70.186
La Unión	173.620	17.362	103.332
TOTAL	2.876.849	287.684	916.480

2. RABIA ANIMAL

2.1.

**Casos de rabia confirmados por laboratorio en animales
domésticos y silvestres.**

AÑO	BOVINOS	CANINOS	FELINOS	OTROS
1962	14	26	1	1 (rata)
1963	4	19	—	—
1964	6	54	—	—
1965	4	37	—	—
1966	7	11	—	—
TOTAL	35	147	1	1

* Dirección General de Ganadería.

2.2. Todo el país es considerado área enzoótica.

2.3 Salud Pública es responsable del programa de rabia.

Año	1962	1963	1964	1965	1966
Perros eliminados	2.180	2.461	29.686	25.459	27.958
Perros vacunados	5.214	1.521	—	—	—

2.4. Bovinos muertos de 1962 a 1966: 35.

El programa consiste en la destrucción de madrigueras.

Se emplea vacuna a virus vivo modificado originado en embrión de pollo desecada al vacío para uso bovino.

2.6. No se han comprobado casos en otros animales silvestres (excluyendo vampiros).

3. RABIA HUMANA

3.1. Casos de rabia humana: 1962, 5; 1963, 3; 1964, 5, 1965, 4; 1966, 7.

3.2. Personas atendidas y tratadas durante 1965 y 1966.

Año	1965	1966
Personas mordidas	10.981	10.371
Personas tratadas (tratamiento completo)	2.930	3.007

GUATEMALA

1. INFORMACION BASICA *

**Datos sobre población humana, canina y bovina,
estimada para 1966.**

Departamentos	Población humana	Población canina	Población bovina
Guatemala	867.236	97.045	85.960
El Progreso	69.428	9.896	32.777
Sacatepequez	83.387	9.925	6.196
Chimaltenango	169.791	23.207	33.831
Escuintla	290.677	30.570	300.000
Santa Rosa	162.010	23.811	153.523
Solola	112.515	15.620	6.780
Totonicapan	145.390	21.959	5.657
Quezaltenango	281.070	38.432	67.860
Suchitopoquez	195.141	27.526	196.317
Retalhuleu	130.825	18.289	74.708
San Marcos	346.547	58.274	82.555
Huehuetenango	299.375	44.260	44.682
El Quiche	258.185	39.099	49.610
Baja Verapaz	99.855	14.909	38.715
Alta Verapaz	269.881	41.300	37.527
El Petén	28.268	3.653	4.392
Izabal	122.886	17.083	24.881
Zacapa	99.754	14.181	85.590
Chiquimula	156.727	23.058	51.817
Jalapa	101.254	14.613	57.969
Jutiapá	207.643	30.685	136.238
T O T A L	4.497.845	617.395	1.567.585

2. RABIA ANIMAL

2.1.

**Casos de rabia confirmados por laboratorio en animales
domésticos y silvestres.**

Género y especie	1962	1963	1964	1965	1966	Total
<i>Canis familiaris</i>	148	184	259	182	184	957
<i>Bos taurus</i>	2	15	2	3	7	29
<i>Felis catus</i>	5	1	13	1	8	28
<i>Rattus rattus</i>	1	—	2	—	—	3
<i>Equus caballus</i>	1					1
<i>Capra sp.</i>				1		1
TOTAL	157	200	276	187	199	1.019

* Departamento de Veterinaria de Salud Pública.

2.2. Prácticamente en todo el país se han observado casos de rabia.

2.3. Durante el período 1962-1966 se han llevado a cabo programas de control a nivel local por los diferentes Centros de Salud y por la Campaña Antirrábica adscrita a la Sección de Zoonosis del Departamento de Veterinaria de Salud Pública. Dichos programas han consistido en observación de perros mordedores, vacunación de perros con dueño y eliminación de perros callejeros. La vacuna usada ha sido LEP cepa Flury producida en el país.

Perros eliminados en Guatemala, por departamentos, durante los años 1962 a 1966.

DEPARTAMENTOS	AÑO					TOTALES
	1962	1963	1964	1965	1966	
Guatemala	8.850	5.523	6.330	12.371	4.850	37.924
El Progreso	1.750	1.200	1.500	1.410	105	5.965
Sacatepequez	1.150	330	1.400	1.165	224	4.267
Chimaltenango	1.200	500	1.220	2.150	500	5.570
Escuintla	3.200	1.995	5.204	2.720	3.387	16.506
Santa Rosa	1.522	50	1.905	220	188	3.885
Solola	1.000	750	1.800	1.000	700	5.250
Totonicapan	1.000	800	500	0	500	2.800
Quezaltenango	1.010	0	1.800	1.300	0	4.110
Suchitepequez	770	0	1.311	1.540	185	3.806
Retalhuleu	200	700	500	850	850	3.100
San Marcos	1.215	410	850	1.330	720	4.525
Huehuetenango	1.010	900	500	500	300	3.210
El Quiche	305	1.500	1.100	2.050	500	5.455
Baja Verapaz	500	400	1.600	800	300	3.600
Alta Verapaz	1.000	0	2.300	550	400	4.250
El Petén	4.000	300	0	500	65	4.865
Izabal	0	1.500	1.300	5.630	2.214	10.644
Zacapa	1.500	1.503	1.610	3.446	1.020	9.079
Chiquimula	801	3.700	2.400	2.600	300	9.801
Jalapa	650	0	750	0	600	2.000
Jutiapá	1.200	100	700	365	100	2.465
Totales:	33.833*	22.161*	36.580	42.497*	18.008	157.255

* Cifras rectificadas de informe previo.

Referencia: Archivo del Depto. de Veterinaria de Salud Pública.

Perros vacunados en Guatemala, por departamentos, durante los años 1962 a 1966

DEPARTAMENTOS	AÑO					TOTALES
	1962	1963	1964	1965	1966	
Guatemala	12.531	9.492	5.723	4.471	2.830	35.047
El Progreso	1.105	0	710	0	170	1.985
Sacatepequez	57	1.945	369	884	902	4.157
Chimaltenango	110	165	1.010	600	955	2.840
Escuintla	3.973	2.052	1.977	2.803	2.250	13.055
Santa Rosa	890	154	1.645	76	5	2.770
Solola	8	940	736	360	200	2.244
Totonicapan	0	0	0	0	200	200
Quezaltenango	110	500	1.400	500	200	2.710
Suchitepequez	825	135	805	1.220	103	3.088
Retalhuleu	0	0	600	1.091	1.000	2.691
San Marcos	1.505	205	0	500	70	2.280
Huehuetenango	10	0	1.150	300	110	1.570
El Quiche	0	700	500	100	100	1.400
Baja Verapaz	2.060	1.200	300	0	2	3.562
Alta Verapaz	150	1.205	450	450	525	2.780
El Petén	100	0	200	0	0	300
Izabal	205	360	150	1.112	686	2.513
Zacapa	0	1.365	500	500	138	2.503
Chiquimula	0	0	715	550	25	1.290
Jalapa	600	0	680	0	0	1.280
Jutiapá	143	0	300	1.540	0	1.983
TOTALES	24.382	20.418	19.920	17.057	10.471	92.248

Referencia: Archivos del Departamento de Veterinaria de Salud Pública.

2.4. En Guatemala se sabe que existe la rabia transmitida por vampiros. Sin embargo, no hay información estadística que permita estimar el número de bovinos o equinos muertos por esta causa. En cuanto al número de bovinos vacunados, éste fluctúa entre 1.500 y 2.000 animales al año, utilizando la mayor parte de las vacunas en áreas de la costa sur que comprende los departamentos de Santa Rosa, Escuintla, Suchitepequez, Retalhuleu, Quezaltenango y San Marcos. La vacuna usada es tipo HEP en embrión de pollo producida en el país.

Hasta la fecha no se han tomado medidas de carácter general para el control de la rabia transmitida por vampiros y únicamente se recomienda el uso de cebos de estricnina, de aplicación tópica, en las mordeduras causadas por quirópteros en los animales de las haciendas que solicitan asesoría al respecto.

Durante los años 1964 y 1965 se trató de demostrar la presencia de rabia en vampiros y para el efecto se capturaron aproximadamente 500 *Desmodus rotundus* en fincas donde habían sido reportados casos de rabia en ganado bovino. Desgraciadamente, tanto los exámenes microscópicos como biológicos dieron resultados negativos. Cabe indicar que en 1961 fueron reportados casos de rabia en *Molossus sinaloae*, *Phyllostomidae* sp. y *Artibeus literatus palmarum*.

2.6. En 1961 fue reportada, por el Dr. Pedro Acha J., rabia en animales silvestres en el Departamento de El Petén. Los animales consignados fueron:

Tepescuintle: *Cuniculus paca virgatus*.

Zorro: *Urocyon cinargenteus guatemalae*.

Mapache: *Procyon lotor*.

Coyote: *Canis latrans*.

Zorrillo: *Conepatus mapuritus*.

3. RABIA HUMANA

3.1.

Casos de rabia humana comprobados en laboratorio, en Guatemala, durante los años 1962 a 1966.

CASOS	AÑO					TOTAL
	1962	1963	1964	1965	1966	
Con tratamiento	2	1	1	0	0	4
Sin tratamiento	2	1	6	6	6	21
TOTALES	4	2	7	6	6	25

3.2.

Personas atendidas por mordeduras y tratamientos instituidos, por departamento, en Guatemala durante 1966.

DEPARTAMENTOS	Personas Atendidas	TRATAMIENTOS HUMANOS			
		Ordenados	Completos	Suspendidos*	Deserciones
Guatemala	4.418	2.137	1.336	673	901
El Progreso	20	7	3	2	1
Sacatepequez	132	102	55	14	17
Chimaltenango	104	69	50	12	22
Escuintla	414	297	210	2	43
Santa Rosa	46	23	20	0	3
Solola	48	47	42	0	3
Totonicapan	66	64	33	14	18
Quezaltenango	543	455	225	14	133
Suchitepequez	403	220	143	1	41
Retalhuleu	230	103	65	7	20
San Marcos	280	271	154	3	46
Huehuetenango	111	104	65	3	9
El Quiché	132	120	111	1	13
Baja Verapaz	63	31	36	2	8
Alta Verapaz	356	346	240	9	43
El Petén	8	2	2	1	2
Izabal	290	89	65	4	21
Zacapa	351	168	124	12	29
Chiquimula	243	91	52	1	4
Jalapa	83	69	35	1	16
Jutiapá	82	8	16	0	10
TOTALES	8.423	4.759	3.049	762	1.385

* Suspendidos por prescripción médica.

Referencias: Departamento de Bioestadística de Sanidad Pública.

Archivos del Departamento de Veterinaria de Salud Pública.

3.3. La vacuna usada en humanos es producida en cerebros de conejos, con concentración de 1,5% de tejido nervioso e inactivada por rayos ultravioleta. En pequeña escala se usa vacuna de virus muerto en embrión de pato. La guía para el tratamiento ha sido la recomendada por el Comité de Expertos en Rabia de la OMS.

3.4.

**Accidentes neuroparalíticos post-vacunales reportados
del 20 de julio de 1958 al 15 de agosto de 1966.**

CASO	FECHA	REGION MORDIDA	Dosis Aplicadas	Recuperación Final
1	20/VII/58	mano	6	5 meses
2	18/IV/59	pierna	14	4 meses
3	26/X/60	mano	7	8 días
4	25/II/62	mano	14	8 días
5	4/X/65	mano	14	8 meses
6	18/II/66	mano	14	4 meses
7	25/II/66	mano y muslo	12	15 días

Referencia: Figueroa Urrea, Julio A. "Complicaciones neurológicas consecutivas al tratamiento antirrábico en Guatemala. Casos observados". Tesis, julio 1966.

3.5. El suero hiperinmune se ha usado y se usa en aquellos casos que lo ameritan.

4. DIAGNOSTICO

4.1. El Laboratorio Biológico de la Dirección General de Sanidad Pública es el oficial para el diagnóstico de rabia. Sin embargo, también realizan diagnóstico en el Laboratorio de Patología Animal del Ministerio de Agricultura y en el Laboratorio del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Los métodos de diagnóstico empleados son Sellers y la prueba biológica en ratón.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. A partir del año 1961 se produce vacuna antirrábica para uso humano, elaborándose en los primeros años la tipo Pasteur; seguidamente, la tipo Semple, y desde 1961 la vacuna de tejido nervioso de conejo, centrifugada e irradiada con rayos ultravioleta. La concentración de tejido nervioso es de 1,5% y además se le agrega fenol al 0,25% y mertiolato 1:10.000.

5.2. También en 1961 se inició la producción en el país de vacuna antirrábica para uso animal, siendo ésta del tipo Flury, modificada. Se elabora vacuna de bajo y alto pasaje en embrión de pollo (LEP y HEP).

Dosis de Vacunas Antirrábicas producidas por el Laboratorio Biológico, 1961-1966

AÑO	USO HUMANO	LEP	HEP
1961	6.185	34.780	3.700
1962	7.478	28.451	7.634
1963	8.231	30.815	5.420
1964	9.807	19.198	5.205
1965	9.537	17.530	6.625
1966	10.390	15.380	2.660

Referencia: Archivos BIOSAN.

5.3. Las pruebas de potencia que se realizan en las vacunas mencionadas son las de NIH y del Centro Panamericano de Zoonosis. Las pruebas de inocuidad se realizan en ratón y conejo. Ambas pruebas se efectúan en cada lote que se prepara.

5.4. Hasta la fecha, no se produce suero antirrábico hiperinmune en el país y la producción de vacunas se encuentra centralizada en el Laboratorio Biológico de Sanidad Pública (BIOSAN).

HONDURAS

1. INFORMACION BASICA *

La población humana de la República de Honduras actualmente es de 2.362.817 habitantes; la población canina se estima en 250.000 canes en toda la República; y la bovina, según el último censo agropecuario, se calcula en 1.315.625 animales de esta especie.

Población humana estimada para 1966 por departamentós

Francisco Morazán	369.952
Atlántida	119.702
Colón	53.940
Comayagua	122.406
Copán	155.064
Cortés	267.198
Choluteca	187.814
El Paraíso	129.717
Gracias a Dios	14.640
Intibucá	86.470
Islas de la Bahía	9.961
La Paz	69.948
Lempira	131.548
Ocotepeque	59.617
Olancho	135.864
Santa Bárbara	192.701
Valle	85.895
Yoro	160.380

2. RABIA ANIMAL

2.1. Casos de rabia en animales: 1962 - 82; 1963 - 65; 1964 - 45; 1965 - 153; 1966 - 26.

2.2. La rabia es endémica en todo el país.

2.3. Los programas de control han sido realizados en el país a base de eliminación de perros y vacunaciones. La eliminación de perros se hace sistemáticamente todos los años; solamente en 1962 se llevó a cabo una vacunación de perros en la capital con el resul-

* Delegados al Seminario.

tado de 5.018 animales vacunados. Se usó vacuna avianizada. Se estima que los perros eliminados fueron en total 16.502.

2.4. La rabia bovina fue diagnosticada por laboratorio.

Bovinos comprobados: 2.

Bovinos vacunados, por año: 69.

Tipo de vacuna: formolizada.

2.5. No se ha hecho control de murciélagos hematófagos.

2.6. Se han presentado varios casos de rabia en mapaches y ratas. En éstas, 19 casos.

3. RABIA HUMANA

3.1. Los casos de rabia humana se distribuyen de la siguiente manera:

1962	—	2
1963	—	2
1964	—	8
1965	—	1
1966	—	2

Todos los casos fueron diagnosticados en los laboratorios de los hospitales en que fueron llevados los casos; no se aplicó ningún tratamiento.

3.2. En 1965 se atendieron 726 personas y en 1966, 786 personas.

3.3. Se usa vacuna antirrábica irradiada. La guía a seguir es la siguiente:

Catorce dosis en mordeduras leves, 21 dosis en heridas cerca del cerebro.

3.4. No se han observado accidentes neurológicos post-vacunales.

3.5. Se usa el suero antirrábico hiperinmune Lederle.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Dos laboratorios son empleados para el diagnóstico de esta enfermedad, ambos situados en la capital; uno es del Ministerio de Recursos Naturales y el otro del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Método microscópico.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

No existen laboratorios para la producción de vacunas y sueros. Todo se compra en el extranjero.

ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

1. INFORMACION BASICA *

Población humana (a), canina (b) y bovina (c)

Estados Unidos Mexicanos

1966

Entidad	Humana	Canina	Bovina
Aguascalientes	284.501	28.450	210.263
Baja California	859.850	85.985	94.071
Baja California, T.	97.455	9.746	266.819
Campeche	204.275	20.428	209.088
Coahuila	1.044.035	104.404	1.377.561
Colima	207.193	20.719	413.029
Chiapas	1.442.585	144.258	2.736.651
Chihuahua	1.536.230	153.623	4.461.602
Distrito Federal	6.468.137	646.814	280.214
Durango	853.116	85.312	2.604.488
Guanajuato	2.040.405	204.040	1.023.815
Guerrero	1.385.227	138.523	1.670.359
Hidalgo	1.093.640	109.364	735.353
Jalisco	2.994.250	299.425	5.294.666
México	2.289.443	228.944	3.102.340
Michoacán	2.175.727	217.573	2.531.819
Morcos	476.846	47.685	313.817
Nayarit	466.445	46.644	975.910
Nuevo León	1.355.538	135.554	1.411.735
Oaxaca	1.943.889	194.389	1.560.400
Puebla	2.220.040	222.004	1.270.376
Querétaro	404.558	40.456	245.167
Quintana Roo	73.084	7.308	26.357
San Luis Potosí	1.185.226	118.523	1.049.255
Sinaloa	991.532	99.153	1.192.687
Sonora	1.015.367	101.537	3.215.039
Tabasco	600.245	60.024	1.166.169
Tamaulipas	1.269.983	126.998	1.534.571
Tlaxcala	390.792	39.079	123.399
Veracruz	3.252.969	325.297	6.746.214
Yucatán	681.605	68.160	905.593
Zacatecas	926.623	92.662	1.712.075
TOTAL	42.230.811	4.223.081	50.460.902

a) Extrapolación en base a los censos de población 1950-1960, según fórmula: $Y = a + bx$.

b) En base al 10% de la población.

c) En base al incremento censal 1960-1964.

* Delegados al Seminario.

2. RABIA ANIMAL

2.1.

Casos de rabia animal según especies, comprobados por el laboratorio. Estados Unidos Mexicanos, 1963-1966.

ESPECIES	A Ñ O S				TOTALES
	1963	1964	1965	1966	
Canídeos	622	1,015	1,454	1,191	4,282
Felinos	31	54	78	64	227
Bovinos	76	28	45	46	195
Equinos	3	2	1	2	8
Otros	45	78	91	95	309
TOTALES	777	1,177	1,669	1,398	5,021

Fuente: Registros de los Laboratorios de Diagnóstico de Rabia.

2.2. De acuerdo con los datos disponibles de casos de rabia en humanos y en animales, puede considerarse que, en mayor o menor grado, la rabia es enzoótica en todo el país, con la excepción del territorio de Quintana Roo, donde nunca se han presentado casos.

2.3 En todos los casos los programas de control de la rabia han sido realizados por las unidades aplicativas de la Secretaría de Salubridad y Asistencia con la colaboración de las autoridades municipales, estatales y la comunidad. La vacuna empleada en todos los programas es de bajo pasaje en embrión de pollo (LEP). En el Distrito Federal permanentemente se realizan actividades de control de la rabia, y en las ciudades de Tijuana, Mexicali y Ensenada, B.C. y San Luis Río Colorado y Nogales, Son., se están realizando programas con la colaboración de la Oficina Sanitaria Panamericana.

VACUNACIONES CANINAS Y PERROS ELIMINADOS EN LOS PROGRAMAS DE LAS ENTIDADES FEDERATIVAS, MEXICO 1962-1966

ENTIDADES	1962		1963		1964		1965		1966		TOTALES	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
	Aguas Calientes	2,118		612	4,850	1,310	984	1,255	5,123	250		5,545
Baja California, Edo.	11,650		12,930		1,721		28,820		30,600		85,721	6,107
Baja California, T.												
Campesche	100		4,060		60	2,756	295	878			4,220	2,756
Coahuila	285		9,081	512	11,714	19,187	695	2,423			21,100	20,527
Colima			200		110						1,290	2,423
Chapas			2,916		197	976		9,364			3,113	10,390
Chihuahua			11,310		2,478	4,853	13,429	26,187			29,716	33,425
Distrito Federal	4,744		55,352	9,061	76,916	8,474	70,071	9,678	2,493	2,385	321,128	40,268
Durango	558		852		528	988	987	2,839			2,525	4,338
Guajuato	910		2,097	6,985	1,530	5,426	2,880	4,358	618	5,455	16,769	16,769
Guerrero	5,206		4,413	436	8,972	5,917	1,293	6,516	396		20,280	12,869
Hidalgo	5,837		100		3,845	4,89	3,365	1,522			13,147	2,011
Jalisco	1,215		4,129	4,871	3,092	9,853	4,951	3,117			13,387	17,841
México					3,127	7,848		4,752			3,127	12,630
Michoacán	1,010		4,438		491	9,845	983	1,481			6,431	1,481
Morelos	200		305				652	4,476			1,648	14,351
Nayarit	110										110	
Nuevo León	1,183		1,917				11,345	19,728			14,445	19,728
Oaxaca	315		1,118	495	259	1,486	568	492	349	487	2,609	2,960
Puebla	532		2,115	1,992	1,172	9,421	1,705	2,976	2,872	3,119	8,396	17,508
Queretaro	8,316						230				8,546	
Quintana Roo T.	50										50	
San Luis Potosí	2,185		826	2,017	9,826	989	1,682	10,917	523		826	989
Sinaloa	3,050		3,770		3,417	28,117	1,682	9,875	7,800		17,986	41,051
Sonora	60		689			14,418	110	4,638	1,245		15,066	24,293
Tabasco			812									
Tamaulipas	5,945		7,792	4,113	4,125	9,828	2,763	10,322			20,625	5,125
Tlaxcala	530		150	487							680	487
Veracruz	11,715		6,736		9,376		2,836	587			30,663	587
Yucatán	100		933		490	630	517	2,976			2,040	2,976
Zacatecas	68		352		635	2,486	862	2,724			1,917	7,688
TOTALES	101,677	4,744	140,015	36,330	145,411	144,371	149,694	147,979	127,506	20,243	654,303	353,667

A) Vacunaciones caninas
B) Perros eliminados

FUENTE: DIRECCION DE EPIDEMIOLOGIA Y CAMPAÑAS SANITARIAS - CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA RABIA

2.4. La rabia transmitida por vampiros existe en las dos zonas que muestra el cartograma anexo. Las medidas tomadas han sido vacunación del ganado y lucha contra el murciélago hematófago, esta última limitada a pequeñas áreas. El número aproximado de bovinos muertos por rabia es de 50.000 y el de equinos 8.000 por año.

El número aproximado de bovinos vacunados al año es de 400.000 y el de equinos 50.000, sin disponerse de datos sobre su distribución por estados. La vacuna usada es de alto pasaje en embrión de pollo (HEP).

2.5. El control de murciélagos hematófagos se ha realizado en pequeñas zonas de los estados de Veracruz, Oaxaca, Morelos y Jalisco. Consiste en la aplicación de nebulizaciones con malathion, veneno de contacto y trampas de cuerdas de piano.

2.6. Los casos de rabia en animales silvestres se presentan como casos esporádicos o pequeños brotes, fundamentalmente en el coyote.

3. RABIA HUMANA

3.1.

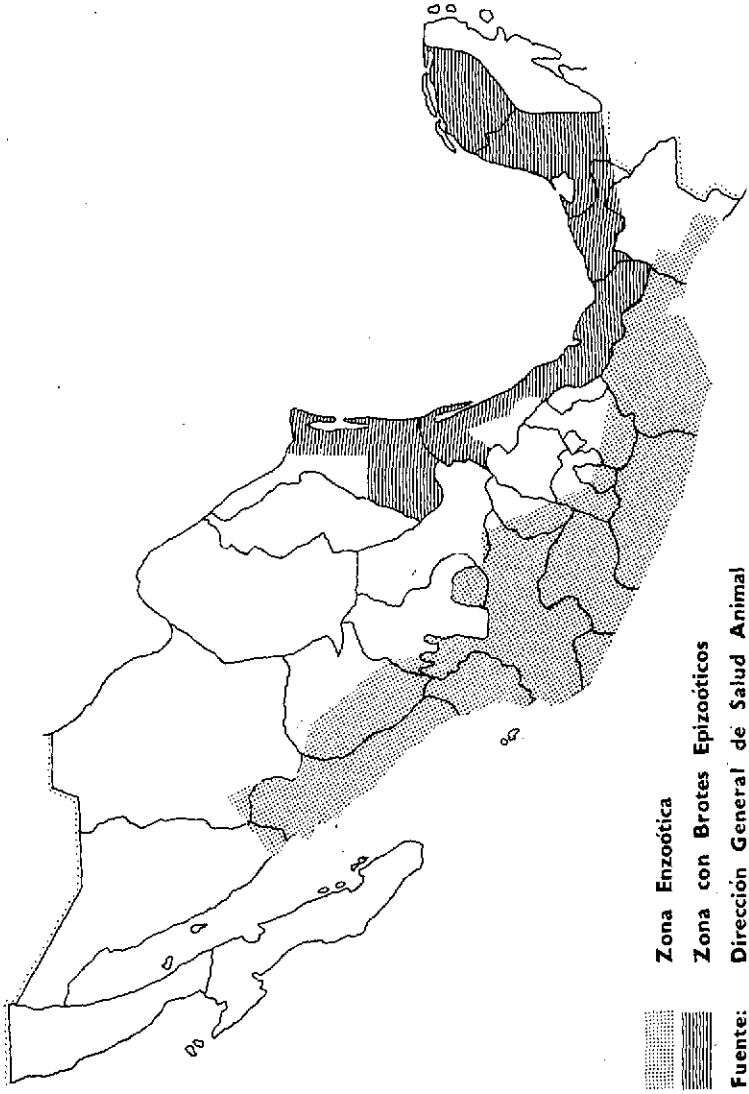
Casos de rabia humana según tipo de diagnóstico y tratamiento preventivo.

Año	Total de casos	Diagnóstico clínico	Confirmación p/laboratorio *	Tratamiento preventivo		
				Nº	Completo	Incompleto
1962	86	84	9	70	8	8
1963	91	88	11	73	8	9
1964	90	84	10	73	7	9
1965	67	62	8	54	6	7
1966	72	66	7	58	6	7

Fuente: Dirección de Bioestadística, S.S.A.

* La confirmación de laboratorio sólo se realiza en algunos casos por falta de facilidades de laboratorio y renuencia de la población para permitir la autopsia.

CARTOGRAMA DE LA INCIDENCIA DE DERRIENGUE
MEXICO 1965



3.2. En 1965 fueron atendidas, por problemas relacionados con la rabia, 64.856 personas, de las cuales recibieron tratamiento 46.328. En 1966 las cifras fueron: 65.932 personas atendidas y 44.653 tratamientos aplicados.

3.3 La vacuna empleada es de tipo Semple y de virus atenuado en embrión de pato. El esquema empleado es de una inyección diaria durante 14 días.

3.4. Durante 1965 y 1966 no se recibieron informes de accidentes neurolíticos post-vacunales.

3.5. El suero antirrábico hiperinmune se emplea desde 1953 a la dosis de 40 unidades internacionales por kilo de peso en los casos de mordeduras en la cara, cráneo, cuello, dedos de la mano, profundas, múltiples, y/o muy contaminadas con saliva. Se aplica de una sola vez, la tercera parte perifocal a las heridas, dentro de las primeras 72 horas de la agresión, preferentemente el primer día.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Existen 10 laboratorios que realizan diagnóstico por inmunofluorescencia, 6 por inoculación y 54 por investigación de corpúsculos de Negri por el método de impresión y tinción de Sellers.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. Se producen en el país 120.000 frascos de 30 cc. cada uno de vacuna Semple para uso humano al año. Es elaborada exclusivamente por el Instituto Nacional de Higiene, laboratorio oficial de la Secretaría de Salubridad y Asistencia. Se ha iniciado la producción de vacuna antirrábica preparada en ratón lactante, pero aún no se está utilizando.

5.2. Un laboratorio oficial, el del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, y 5 laboratorios privados, producen vacuna antirrábica canina de los tipos de alto y bajo pasaje.

**Producción anual de vacuna (a) antirrábica
para uso animal según productores
1966**

Productor	Tipo de vacuna	
	(H.E.P.)	(L.E.P.)
Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias.	260.000	320.000
Cyanamid de México (b)	120.000	500.000
Química Hoechst de México	80.000	150.000
Laboratorios Pfizer	50.000	60.000
Laboratorios Aranda	10.000	30.000
Productos Veterinarios Mexicanos	10.000	15.000
TOTALES	530.000	1.075.000

(a) Información proporcionada por los propios laboratorios, en número de dosis.

(b) Destina el 80 % para exportación.

5.3. A cada uno de los lotes de vacuna para uso humano se les sujeta a las pruebas de potencia e inocuidad recomendadas por los National Institutes of Health, utilizando vacuna de referencia de la Organización Mundial de la Salud. Estas pruebas son practicadas por el Laboratorio de Producción y repetidas por el Instituto Nacional de Virología. Esta última institución realiza estas mismas pruebas en las vacunas antirrábicas para uso humano que se expenden en el comercio, importadas.

Para las vacunas antirrábicas de uso animal se utilizan pruebas de inocuidad en ratones y de potencia en cobayos para cada uno de los lotes producidos. Estas pruebas se realizan en los laboratorios de producción y son repetidas en el Laboratorio del Departamento de Control de Medicamentos de la Secretaría de Agricultura y Ganadería. La vacuna utilizada por la Secretaría de Salubridad y Asistencia en sus programas es controlada, mediante estas pruebas, por el Instituto Nacional de Virología.

5.4. El suero antirrábico hiperinmune se produce por el mismo método que utilizan en el Instituto Pasteur de París, obteniéndose 9.285 frascos de 10 c.c. que contienen 2.000 unidades.

NICARAGUA

1. INFORMACION BASICA *

Datos sobre población humana, bovina y canina (1967).

Departamentos	Población humana	Población bovina	Población canina
Boaco	71.615	149.746	13.340
Carazo	65.888	26.114	10.333
Chinandega	128.624	109.359	
Chontales	75.575	161.522	
Esteli	69.257	78.916	11.811
Granada	65.643	28.929	4.620
Jinotega	76.935	61.879	14.308
León	150.051	144.645	36.746
Madriz	50.299	28.200	9.180
Managua	318.826	89.041	39.433
Masaya	34.158	10.541	4.491
Matagalpa	171.465	177.512	31.437
N. Segovia	45.900	44.448	8.158
Río S. Juan	15.676	31.747	2.839
Rivas	64.361	65.236	10.907
Zelaya	88.963	43.928	
TOTAL	1.535.588	1.251.763	244.388

2. RABIA ANIMAL

2.1.

Diagnóstico de laboratorio, 1963-1966.

AÑO	CANINOS		FELINOS		BOVINOS		OTROS		TOTAL	
	Ex.	Pos.	Ex.	Pos.	Ex.	Pos.	Ex.	Pos.	Ex.	Pos.
1963	55	44	6	3	1	—	1	1	63	48
1964	70	47	6	1	1	1	—	—	77	49
1965	72	56	5	3	1	0	1	1	79	60
1966	80	62	7	5	1	—	—	—	88	67

* Ministerio de Salubridad Pública.

2.2. Existe en todo el país, exceptuando el Departamento de Zelaya (Costa Atlántica).

2.3 Los programas de control de rabia se limitan a una *eliminación canina* esporádica e irregular, haciéndose solamente campañas extensivas en la frontera sur.

2.4. Según el MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería), existe la rabia transmitida por vampiros: a) Se estima que en los últimos años han habido unos 100 focos (aproximado), animales muertos: 1.000 a 2.000 (Muchos animales mueren sin diagnóstico). b) No se conoce, pero según cálculos del MAG es escaso el número de vacunados en el país. c) Generalmente se utiliza: 1º) Flury HEP, e inactivada de virus fijo en tejido nervioso.

No se han tomado medidas efectivas para el control de rabia bovina.

2.5. No se han tomado medidas para control de murciélagos hematófagos.

2.6. Unos pocos casos en ardillas, mapaches, etc.

3. RABIA HUMANA

3.1. a) Hubo una muerte en julio de 1965 (Depto. de Chinandega), confirmada en los Lab. de Medicina de la Univ. Nacional.

b) Hubo 3 muertes durante los meses de abril, mayo y septiembre de 1966.

Solamente se hizo diagnóstico clínico.

En ninguno de los casos se había aplicado tratamiento antirrábico.

3.2.

Año	Personas mordidas	Inic. Trat.	Terminación
1965	1.886	1.337	793
1966	2.974	2.204	1.545

3.3. Vacuna de virus inactivado (tejido nervioso) por irradiación (Lab. de Sanidad de Guatemala). No se siguen exactamente normas definidas de inmunización humana. Hay mucha irregularidad.

3.4. No hay datos. No existe control post-vacunal humano.

3.5. Se ha usado en poca escala.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Solamente el M. de Salud Pública y el MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería) las realizan.

Métodos utilizados:

- a) Observación microscópica directa de corpúsculos de Negri (colorante de Seller).
- b) Biológica (inoculación de ratones por vía intracerebral).

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

En Nicaragua no se producen vacunas ni sueros.

NOTA: En el M.S.P. existe un equipo para investigaciones por inmunofluorescencia pero no se utiliza.

P A N A M A

1. INFORMACION BASICA *

**Datos sobre población humana, canina y bovina,
estimada para 1966.**

Provincias	Población humana	Población canina	Población bovina *
Bocas del Toro	39.300	3.900	8.400
Coclé	108.700	10.870	75.800
Colón	115.000	11.500	9.000
Chiriquí	226.200	22.600	297.500
Darién	22.900	2.900	4.600
Herrera	70.600	7.000	123.500
Los Santos	77.800	7.780	216.400
Panamá	475.900	35.000	74.000
Veraguas	150.300	15.000	159.400
T O T A L	1.286.700	86.550	986.600

* Datos correspondientes a 1965. Población bovina total estimada para 1966: 978.286.

2. RABIA ANIMAL

2.1.

**Casos de rabia comprobados en el laboratorio
durante los últimos 5 años.**

Fecha	Localidad	Especie
2-5-63	Chiriquí	Bovino
6-5-63	Chiriquí	Bovino
6-5-63	Darién	Bovino
5-8-63	Chiriquí	Bovino
8-6-64	Río Alejandro, Colón	Bovino
26-6-64	Darién	Bovino
15-10-64	El Valle de Antón, Coclé	Equino
26-1-65	Colón	Bovino
8-2-66	Bocas del Toro	Bovino
18-3-66	Bocas del Toro	Bovino
2-3-66	Panamá	Bovino
25-3-66	Chorrera, Panamá	Bovino
20-5-66	Timaja, Chiriquí	Bovino
20-5-66	Paso Canoa, Chiriquí	Bovino
11-3-67	Coiba, Veraguas	Bovino
21-3-67	Colón	Bovino
14-4-67	Cerro Azul, Panamá	Bovino
10-8-67	La Pintada, Cocle	Bovino

* Ministerio de Trabajo, Previsión Social y Salud Pública, Sección de Salud Pública Veterinaria.

2.2. La rabia paralítica se considera enzoótica en todo el país.

2.3 Los programas de control de rabia canina que se han llevado a cabo en Panamá consistieron en: a) cuarentena de perros y gatos procedentes del exterior; b) vacunación de perros en las zonas que consideramos de mayor peligro cuando se produce una amenaza, como es el caso de la frontera con Costa Rica. En los últimos 5 años no hemos tenido vacunación; sólo la cuarentena.

2.4. Las medidas que se han tomado para controlar la rabia transmitida por vampiros han sido de carácter temporal, parciales y esporádicas. Se han eliminado murciélagos (en cuevas) en forma muy limitada; esta medida se ha tomado muy de vez en cuando. También se han hecho vacunaciones de bovinos en forma esporádica. No hay registro de animales vacunados (bovinos). La vacuna que se usa es de virus modificado de alto pasaje.

2.5. No se ha hecho control de murciélagos hematófagos.

2.6. No hay evidencias de que hayan ocurrido casos de rabia en otros animales silvestres (excluyendo vampiros).

3. RABIA HUMANA

3.1. En los últimos 5 años no se han registrado casos de rabia humana.

3.2. Durante 1966 dos (2) personas recibieron tratamiento antirrábico por haber manipulado cabezas de bovinos afectados con rabia.

3.3. Tipo de vacuna usada: Simple.

3.4. No se han observado accidentes neurológicos postvacunales.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Sólo un laboratorio hace el diagnóstico en la República de Panamá. (A menudo obtenemos ayuda del Laboratorio del MARU de la Zona del Canal, sobre todo en la confirmación por anticuerpos fluorescentes). Los métodos son: a) placa directa, impresiones - corpúsculos de Negri; b) inoculación en ratones.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

En el país no se produce vacuna ni suero antirrábico.

P A R A G U A Y

1. INFORMACION BASICA *

Datos sobre población humana, canina y bovina.

Departamentos	Población humana * 1966	Población bovina ** 1965
Capital	347.607	6.544
Concepción	93.350	396.123
San Pedro	100.492	280.825
Cordillera	208.355	312.443
Guairá	127.594	141.886
Caaguazú	137.919	170.220
Caazapá	101.900	247.809
Itapúa	166.690	272.268
Misiones	65.379	383.412
Paraguari	224.686	402.394
Alto Paraná	27.344	15.821
Central	229.498	117.865
Ñeembucú	63.861	422.240
Amambay	37.878	56.845
Pte. Hayes	34.490	1.749.922
Boquerón	44.423	323.060
Olimpo	3.713	71.693
T O T A L	2.015.179	5.471.370

* Cifras estimadas en base al censo de 1962.

** Cifras estimadas en base al censo agropecuario de 1961.

Población canina. — En el área Capital se estima que el 90 % de las viviendas tienen perros y como el número de viviendas estimadas para 1966 es de 61.663, el número de perros existentes sería de 55.497. Del interior no podemos dar cifras por no haberse realizado ningún estudio.

* Delegados al Seminario.

2. RABIA ANIMAL

2.1.

Casos de rabia confirmados por laboratorio en animales domésticos y silvestres.

ESPECIE	1962	1963	1964	1965	1966	TOTAL
Caninos	98	78	44	95	144	459
Gatos	3	3	4	1	2	13
Monos	—	1	—	—	1	2
Bovinos	2	1	1	—	3	7
Equinos	—	—	—	1	—	1
Porcinos	—	3	—	—	—	3
TOTAL	103	86	49	97	149	485

2.2. Prácticamente todo el territorio nacional se considera como área enzoótica de rabia.

2.3. El control de la rabia canina lo realiza el Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social conjuntamente con la Facultad de Agronomía y Veterinaria dentro del área de la capital. Este control consiste en la recolección de perros vagabundos, los cuales se eliminan con monóxido de carbono si no son retirados por sus propietarios previa vacunación antirrábica. Desde 1962 hasta 1966 se han capturado 9.426 perros, habiendo sido eliminados 6.784. La vacuna usada generalmente es importada, de producción argentina, como así también de fabricación nacional obtenida a partir de cerebro de equino (método de Kelsner).

2.4. Se ha comprobado en el Paraguay la rabia transmitida por vampiros. Las medidas sanitarias que se toman para combatir estos brotes se basan en vacunaciones voluntarias por los propios ganaderos. No existe una disposición oficial sobre medidas preventivas contra la rabia en el ganado bovino.

No se lleva un registro estadístico de rabia en bovinos y equinos en el Ministerio de Agricultura y Ganadería donde funciona el Departamento de Sanidad Animal. Pueden citarse, sin embargo, algunos brotes periódicos que son de conocimiento del sector privado, habiendo ocurrido últimamente uno en la región occidental del país (Chaco) en el año 1966, con una incidencia de mortalidad de hasta 500 casos, siendo esta circunstancia lo que lógicamente motiva la demanda de vacunación.

No se cuenta con cifras estadísticas organizadas para registrar vacunaciones de bovinos contra la rabia. Debe señalarse que el Servicio Oficial de Veterinaria cubre ahora un porcentaje ínfimo del territorio nacional. Tampoco hay control de ventas de vacunas antirrábicas para estimar las vacunaciones.

Se utilizan generalmente vacunas inactivadas con formol al medio por ciento, tipo Kelser, que se producen en el país. Se utilizan igualmente vacunas importadas del tipo Fuenzalida; en algunos casos también vacuna de alto pasaje tipo Flury.

2.5. No se han encarado aún estudios sobre la biología de los murciélagos hematófagos en el país. A nivel oficial no se ha tomado ninguna medida de control.

2.6. No se tiene información sobre la ocurrencia de casos de rabia en animales silvestres (excluyendo vampiros).

3. RABIA HUMANA

3.1. Casos de rabia humana: de 1962 a 1964, ninguno; en 1965, 2 casos.

3.2. Durante 1965 fueron atendidas por exposición al contagio 968 personas, 573 (59,2%) de las cuales fueron vacunadas. En 1966 acudieron al consultorio 1.227 personas, habiendo sido vacunadas 726 (59,2%).

3.3. Desde 1962 estamos usando la vacuna chilena tipo Fuenzalida. La guía para la vacunación que usamos es la propuesta por el Comité de Expertos en Rabia de la OMS.

3.4. Se registró un caso típico de mielitis transversa. El paciente inició la vacunación antirrábica (vacuna Lederle) el 11 de setiembre de 1958. Los síntomas comenzaron al recibir la inyección número 18 de la serie.

3.5. Se ha usado suero antirrábico hiperinmune.

4. DIAGNOSTICO

4.1. Los laboratorios oficiales que realizan el diagnóstico de la rabia son: el del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social y el del Ministerio de Agricultura y Ganadería. Además, el laboratorio privado de diagnóstico histopatológico del Prof. Dr. Juan Boggino.

Los métodos empleados son: coloración de Sellers y cortes histopatológicos en inclusión de parafina para identificación de corpúsculos de Negri.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. No se produce vacuna antirrábica ni suero hiperinmune para uso humano.

5.2. Se produce vacuna antirrábica para uso animal.

- a) Laboratorio Boquerón (privado). Produce vacuna antirrábica cloroformada al 2% utilizando el método Kelsner. A partir de cerebro de equino, inoculado con virus PV-10 $\frac{1}{4}$. Producción anual: 30.000 dosis (varía de acuerdo a la demanda).
- b) Laboratorio Pasteur. Produce vacuna antirrábica inactivada con formol al 2% utilizando el método de Kelsner, a partir de cerebro de equino inoculado con virus fijo de Pasteur. Producción anual: 20.000 dosis.
- c) Laboratorio del Dr. Sancir Lima Alvarez (privado). Produce vacuna antirrábica inactivada con formol al 2% utilizando el método Kelsner, a partir de cerebro de equino inoculado con virus fijo de Pasteur. Producción anual: 50.000 dosis.

5.3. Pruebas: inocuidad, pasajes en conejo, potencia (test de Habel).

5.4. No se produce suero antirrábico hiperinmune.

P E R U

1. INFORMACION BASICA *

La población humana del país ha sido extrapolada al 1° de Julio de 1966, de acuerdo con los dos últimos censos, con un incremento anual de 3,0%. El 47% vive en zonas urbanas y con una densidad de 9,1 habitantes por Km² para todo el país.

La población bovina es un estimado realizado por muestreo el año 1966 por el Ministerio de Agricultura.

La población canina es un estimado en relación con la población humana. Esta relación se ha sacado por medio de encuestas en la población escolar.

Cuadro N° 1.
Población humana, canina y bovina del Perú,
por Departamentos. Año 1966

DEPARTAMENTOS	POBLACIONES		
	Humana	Canina	Bovina
Amazonas	148.300	18.537	89.900
Ancash	677.600	84.700	250.000
Apurimac	317.500	39.687	249.000
Arequipa	464.700	58.087	176.000
Ayacucho	452.100	56.512	322.000
Cajamarca	900.100	112.512	435.000
Callao	279.500	34.937	(Lima)
Cuzco	702.700	87.837	285.000
Huancavelica	342.300	42.787	180.000
Huánuco	389.700	48.712	170.000
Ica	313.800	39.225	35.000
Junín	621.200	77.650	190.000
La Libertad	700.200	87.525	32.900
Lambayeque	421.900	52.737	39.900
Lima	2.643.700	330.462	920.000
Loreto	432.900	54.112	39.900
Madre de Dios	20.000	2.500	140.000
Moquegua	61.300	7.662	25.000
Pasco	167.500	20.937	50.000
Piura	811.500	101.437	159.800
Puno	789.600	98.700	450.000
San Martín	200.900	25.112	50.000
Tacna	81.300	10.162	30.000
Tumbes	71.200	8.900	11.900
TOTAL	12.011.500	1.501.438	3.691.400

NOTA: La relación entre población humana y canina es de 8x1. Esta relación es la más alta que se ha encontrado.

* Delegados al Seminario.

2. RABIA ANIMAL

2.1. Los casos de rabia que se contabilizan en el país son confirmados por laboratorios oficiales. En el Cuadro N° 2 se muestra la incidencia de rabia durante los años 1962-1966 y por especies.

Cuadro N° 2.
Casos de rabia animal, según especies y años
Perú 1962-1966

ESPECIES	AÑOS					TOTAL
	1962	1963	1964	1965	1966	
Pérrros	694	1.184	1.354	1.349	1.528	6.109
Gatos	16	29	46	44	36	170
Bovinos	3	18	7	7	16	51
Porcinos	1	4	9	5	9	28
Equinos	4	12	2	4	6	28
Caprinos	1	2	1	3	—	7
Ovinos	—	2	1	2	1	6
Zorros	1	—	3	—	1	5
Monos	—	—	1	2	1	4
Auquénidos	—	—	1	—	2	3
Venados	—	1	—	—	—	1
Pumas	1	—	—	—	—	1
Otros (*)	12	3	—	8	—	23

Fuente: Asesoría de Salud Pública Veterinaria, MSPAS.

(*) Muestras diagnosticadas positivas a rabia y que no indicaron especie del animal.

El total de casos para los cinco años y para todas las especies fue de 6.436, correspondiendo a un aumento anual medio de 173.4 casos. En cuanto a las especies corresponde el 94.9% a los caninos; el 2.6% para los felinos domésticos y menor porcentaje las otras especies.

2.2. Las áreas consideradas enzoóticas de rabia no están debidamente delimitadas, por lo cual consideramos a los Departamentos como enzoóticos de acuerdo a la presentación de casos.

El país está dividido en tres regiones con características propias como la Costa, la Sierra y la Montaña (región selvática).

En la Costa podemos considerar enzoóticos los siguientes Departamentos: Lima, Ica, La Libertad.

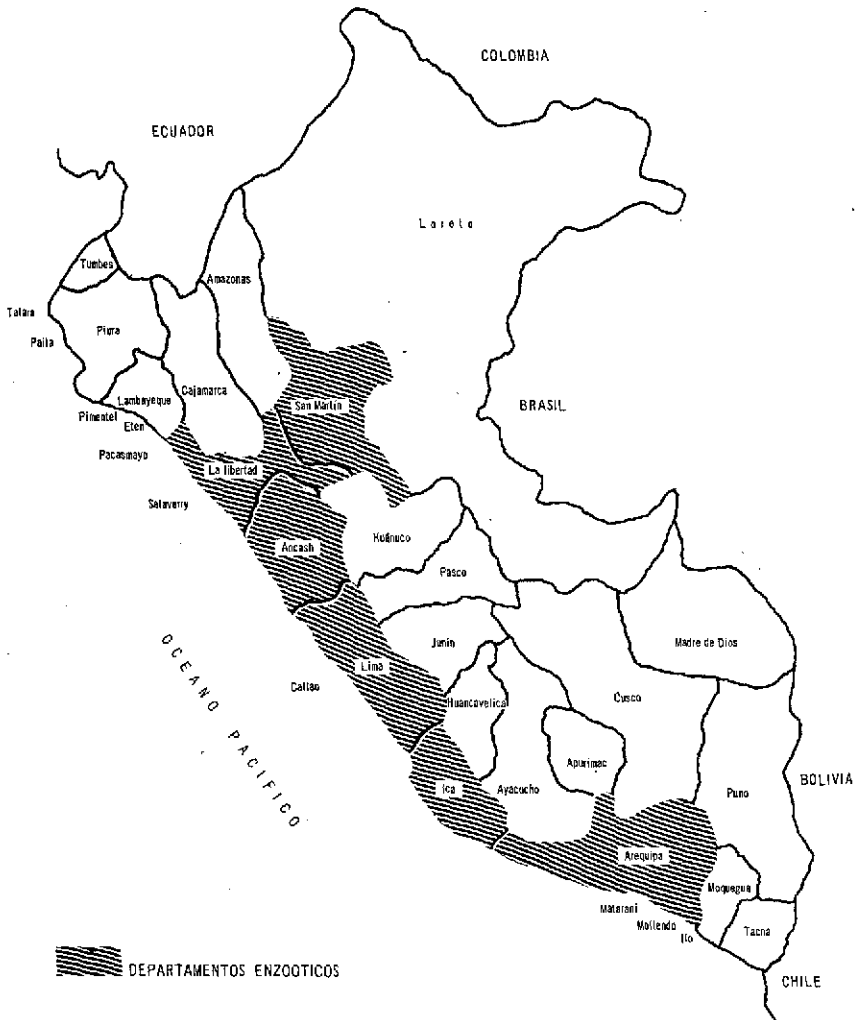
En la Sierra: Ancash, Arequipa.

En la Selva: San Martín.

Como se puede observar es en la Costa donde se presenta la mayor cantidad de casos. En el Cartograma N° 1 se pueden apreciar los Departamentos considerados enzoóticos, y en el Cartograma N° 2, la incidencia por Departamentos.

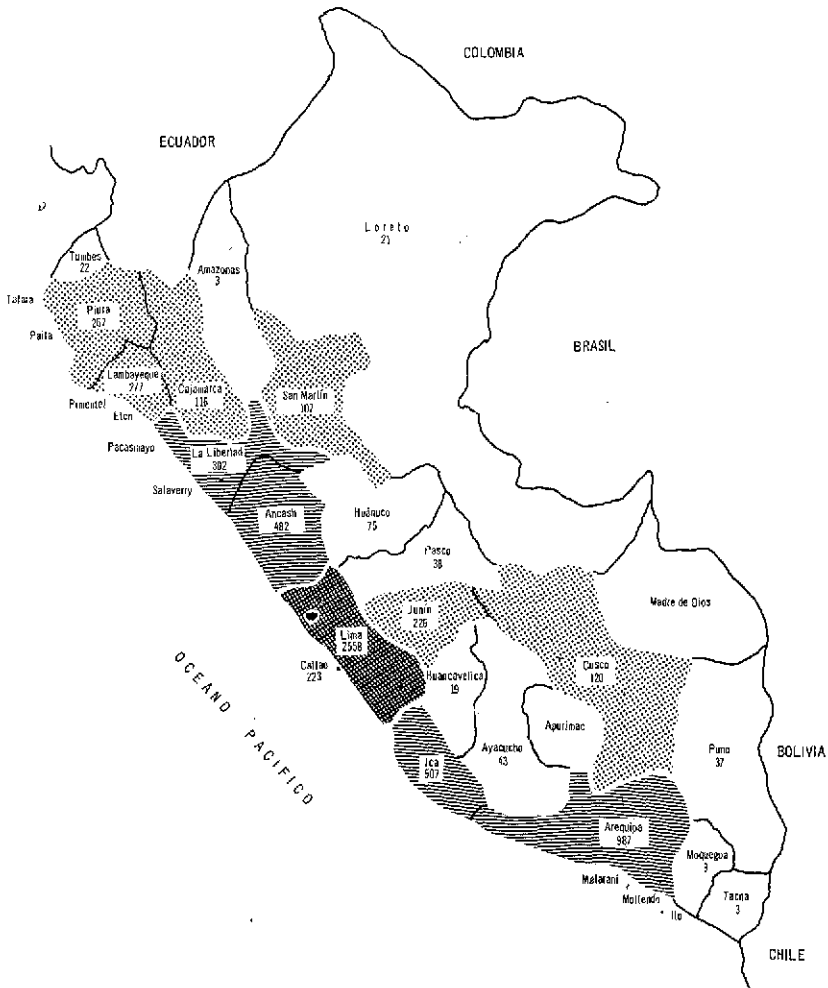
Cartograma N° 1

DEPARTAMENTOS CONSIDERADOS ENZOOTICOS DE RABIA
PERU 1966



Cartograma N° 2

INCIDENCIA DE RABIA ANIMAL EN EL PAIS DURANTE EL QUINQUENIO
1962 - 1966



2.3. En el Perú las campañas antirrábicas son efectuadas exclusivamente por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, mediante sus Areas de Salud. En cada Area de Salud trabaja un médico veterinario, quien tiene la responsabilidad (entre otras) del control de la rabia.

Las campañas están orientadas a la reducción de la población canina como una actividad de rutina. La vacunación canina se realiza esporádicamente en forma de vacunación masiva, para lo cual se solicita la colaboración de otras entidades de gobierno, como el Ministerio de Agricultura, de Guerra, de Gobierno y Policía y a las Municipalidades.

Cuadro N° 3.
Reducción de la población canina, según Departamentos y años.
Perú 1962-1966.

DEPARTAMENTOS	AÑOS					TOTAL
	1962	1963	1964	1965	1966	
Ancash	4.009	7.185	9.662	9.172	2.775	32.803
Arequipa	12.538	12.219	10.832	12.215	22.699	70.503
Ayacucho	220	917	1.142	—	—	2.279
Callao	3.032	2.658	6.087	2.390	1.929	16.096
Cuzco	—	—	1.291	474	—	1.765
Huancavelica	552	1.430	538	—	—	2.520
Ica	5.018	7.382	14.527	2.503	6.337	35.767
Junín	4.323	10.080	10.761	14.357	4.540	44.061
Lambayeque	2.784	11.708	48.109	31.390	20.807	114.798
La Libertad	—	505	4.425	2.648	6.282	13.860
Lima	13.597	12.942	35.157	26.487	63.911	152.094
Moquegua	—	171	—	—	—	171
Pasco	1.025	30	—	—	—	1.055
Piura	2.524	11.683	27.469	24.814	19.760	86.950
Puno	971	1.299	2.420	995	4.324	10.009
San Martín	362	426	1.550	186	2.029	4.553
Tacna	1.200	1.513	2.938	80	—	5.731
Tumbes	—	735	2.000	2.248	3.576	8.559
TOTALES:	52.155	82.883	178.908	129.959	158.969	602.874

Fuente: Archivos de la Asesoría de Salud Pública Veterinaria, MSPAS.

La reducción de la población canina para los cinco años mostrados ha tenido un aumento anual medio de 21.363 canes eliminados y con un promedio anual de 120.575 canes.

La reducción de la población canina se realiza por medio de bocados con esticnina. En Lima se ha venido realizando por el sistema de atrape y sacrificio por cámara de gases. Desde 1966 se viene realizando por los dos sistemas con mayor énfasis en la administración de bocados en las zonas populosas.

Cuadro N° 4.
Vacunación antirrábica canina, según Departamentos y años.
Perú 1962-1966.

DEPARTAMENTOS	AÑOS					TOTAL
	1962	1963	1964	1965	1966	
Ancash	346	571	2.838	1.409	165	5.329
Arequipa	377	443	466	824	877	2.987
Ayacucho	—	176	—	—	—	176
Callao	1.113	1.194	1.601	1.461	944	6.363
Cuzco	—	—	250	74	—	324
Huancavelica	4	23	—	—	—	27
Ica	353	206	663	237	143	1.602
Junín	25	49	12	—	—	86
Lambayeque	182	1.004	3.956	1.261	1.097	7.500
La Libertad	—	438	1.186	555	545	2.724
Lima	5.347	6.398	7.673	11.037	11.082	41.537
Moquegua	9	—	—	—	—	9
Pasco	64	—	—	—	—	64
Piura	604	648	4.381	604	434	6.671
Puno	68	32	132	174	59	465
Sau Martín	1.471	584	759	72	—	2.886
Tacna	—	328	79	—	—	407
Tumbes	—	25	74	59	74	232
TOTALES	9.959	12.100	24.093	17.767	15.470	79.389

Fuente: Archivos de la Asesoría de Salud Pública Veterinaria, MSPAS.

La vacunación antirrábica se realiza esporádicamente y se han utilizado diferentes clases de antígenos, a saber: virus vivo modificado en embrión de pollo y la vacuna tipo Fuenzalida. Durante los 5 años mostrados se observa un promedio anual de 15.878 vacunaciones. Especialmente la aplicación de vacuna se hace en canes, y en gatos en mínima proporción.

Durante el presente año (1967), el MSPAS destinó una partida especial para el control de la rabia en los Departamentos de mayor incidencia. Se declaró zona de emergencia los Departamentos de Lima, Ica y Arequipa. Los resultados parciales de las campañas son los siguientes:

Departamentos	Eliminación canina	Vacunación canina
Lima	74.129	77.839
Arequipa	21.102	20.400
Ica	6.154	7.505

NOTA: Estas campañas se han realizado en las capitales de los Departamentos.

2.4. Hasta la fecha no se ha diagnosticado rabia transmitida por vampiros. Se han realizado numerosos trabajos de investigación al respecto, habiéndose efectuado alrededor de 8.000 análisis de laboratorio, tanto en murciélagos hematófagos como en no hematófagos.

2.5. No se ha hecho control de murciélagos hematófagos.

2.6.

Cuadro N° 5. Casos de rabia en animales silvestres, según especies y años. Perú 1962-1966

ESPECIES	AÑOS					Total
	1962	1963	1964	1965	1966	
Zorros	1	—	3	—	1	5
Monos (*)	—	—	1	2	1	4
Venados	—	1	—	—	—	1
Pumas	1	—	—	—	—	1
TOTAL	2	1	4	2	2	11

Fuente: Archivos de la Asesoría de Salud Pública Veterinaria, MSPAS.

(*) Monos domesticados.

Como se puede apreciar los casos de rabia silvestre son mínimos en relación a las especies domésticas. En realidad se desconoce la magnitud del problema de la rabia selvática. Aún no se han hecho investigaciones al respecto con excepción de murciélagos.

3. RABIA HUMANA

3.1. Desde 1962 a 1966 se han presentado 89 casos de rabia humana diagnosticada por el laboratorio, tal como se describe en el Cuadro N° 6.

Cuadro N° 6. Casos de rabia humana diagnosticados por el laboratorio. Perú 1962-1966

Año	N° casos	Vacunados	Sin vacunar
1962	12	2	10
1963	11	4	7
1964	23	—	23
1965	17	2	15
1966	26	—	26
Totales	89	8	81

El Cuadro N° 7 da los detalles de los 8 casos de rabia producidos en personas vacunadas.

**Cuadro N° 7. Casos de rabia en personas vacunadas
Perú 1962-1966**

Año	Caso N°	MORDEDURA *		Vacunación Fecha	Dosis recibida	Tipo vacuna
		Fecha	Lugar			
1962	1	20-7	Todo el cuerpo	30-7	14	Semple
	2	10-11	Pierna	13-11	2	Semple
1963	3	1-9	Mano	7-10	12	Semple
	4	1-10	Cara	1-10	14	Semple
	5	4-5	Cara	5-5	6	Semple
	6	26-3	Cabeza	26-3	6	Fuenzalida
1965	7	12-9	Cara	18-9	14	Fuenzalida
	8	20-7	Pierna	5-8	5	Fuenzalida

* Todas las mordeduras fueron producidas por perros, con excepción del caso N° 1 del año 1962 que fue producida por un puma con diagnóstico positivo de rabia.

3.2.

**Cuadro N° 8. Número de personas mordidas y vacunadas
Perú 1962-1966**

AÑO	N° de personas mordidas	Tratamientos iniciados ¹	Tratamientos completos ²
1962	13.314	3.857	2.441
1963	19.798	7.505	4.488
1964	29.394	11.268	6.237
1965	28.248	9.653	5.474
1966	33.903	14.071	7.579
TOTAL	124.657	46.354	26.219

¹ Número de personas que recibieron las primeras dosis de vacuna.

² Número de personas que completaron el tratamiento, por las condiciones del animal mordedor: rabioso o que no se pudo observar (huído).

3.3 Durante los años de 1962 a 1966, se han utilizado para el tratamiento antirrábico dos tipos de vacuna:

- a) Vacunas irradiadas preparadas en cerebro de conejo al 5% (tipo Semple).
- b) Vacunas irradiadas preparadas en cerebro de ratones lactantes al 1% (tipo Fuenzalida).

Estos dos tipos de vacunas se utilizaron en los porcentajes anuales que se describen en el Cuadro N° 9.

Cuadro N° 9. Porcentaje de utilización de las vacunas tipo Semple y Fuenzalida. Perú 1962-1966

AÑO	Semple	Fuenzalida
1962	100.00%	0. %
1963	80.56%	19.44%
1964	32.09%	67.91%
1965	0. %	100.00%
1966	23.08%	76.92%

La guía que se empleó para el tratamiento antirrábico en personas, fue de acuerdo con las recomendaciones del Comité de Expertos en Rabia.

3.4. Se han reportado algunos casos de accidentes post-vacunales con la vacuna de tipo Semple durante estos últimos 5 años, habiéndose presentado un solo accidente con la vacuna de tipo Fuenzalida.

3.5. El suero antirrábico hiperinmune se ha utilizado en muy pocos casos con sueros importados, y recientemente, a partir del presente año, se está generalizando su uso de acuerdo con las recomendaciones descritas por el Comité de Expertos en Rabia de la OMS.

4. DIAGNOSTICO

4.1. En el Perú, el diagnóstico de la rabia se realiza en tres laboratorios:

- a) En la ciudad de Chiclayo, en el norte del Perú.
- b) En la ciudad de Arequipa, en el sur del país.
- c) En la ciudad de Lima, en el centro, donde a su vez existen 2 laboratorios:

1. En el Centro Antirrábico de Chacra Ríos, para el diagnóstico de los animales mordedores que mueren durante su observación clínica.
2. En el Instituto Nacional de Salud, como Laboratorio Central, para el diagnóstico de muestras provenientes de diferentes lugares del Perú, utilizándose también como centro de entrenamiento y evaluación de los otros laboratorios.

Los métodos de diagnóstico que se usan son la técnica de Sellers y la inoculación de ratones en los casos negativos al Sellers. La técnica de inmunofluorescencia se emplea en el laboratorio del Instituto Nacional de Salud.

5. PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. Las vacunas antirrábicas para uso humano que se producen en el Perú se elaboran en el Instituto Nacional de Salud, en la Unidad de Producción de Vacunas Antirrábicas, habiéndose producido durante estos últimos 5 años dos tipos de vacuna:

- a) Vacunas irradiadas de tipo Semple en conejos al 5%: durante los años 1962, 1963 y 1964 y unos lotes en el año 1966, por haberse presentado un brote de salmonelosis en el bioterio de ratones, que no permitió cumplir con el volumen solicitado de vacuna tipo Fuenzalida.
- b) Vacuna irradiada tipo Fuenzalida, a partir de 1961-62 en pequeños lotes experimentales, iniciándose su producción en volúmenes apreciables a partir de 1963, los cuales fueron incrementándose anualmente de acuerdo con las posibilidades de nuestro bioterio de ratones, tal como figura en el Cuadro N° 10.

Cuadro N° 10. Producción de vacunas antirrábicas de uso humano. Perú 1962-1966

AÑO	Dosis de vacuna		Total dosis
	Semple	Fuenzalida	
1962	63.000	—	63.000
1963	93.000	25.000	118.000
1964	52.000	110.000	162.000
1965	—	165.000	165.000
1966	48.000	160.000	208.000

5.2. Las vacunas antirrábicas de uso veterinario que se elaboran en el Perú, provienen de dos laboratorios productores

- a) Instituto Nacional de Salud que recientemente ha iniciado su producción, pero en cantidades muy limitadas con relación a las necesidades del país, debido a factores económicos. Iniciamos su producción con la vacuna tipo Fuenzalida, debiendo cambiar a la de tipo Flury de bajo pasaje el año 1966, por las condiciones mencionadas en la sección 5.1. La producción del año 1966 ha sido de 15.000 dosis, habiéndose programado para el año de 1968, de acuerdo con lo solicitado por el Ministerio de Salud Pública, una producción de 150.000 dosis de vacuna Flury.
- b) El laboratorio Phillips que es privado y produce cantidades muy reducidas de vacuna de tipo Flury de bajo pasaje para uso particular. Igualmente se importan vacunas de laboratorios extranjeros, que han sido utilizadas en la campaña de vacunación masiva recientemente realizada.

5.3. Las pruebas de potencia e inocuidad que se realizan en las vacunas para uso humano y veterinario por el Instituto Nacional de Salud son las siguientes:

- a) Inocuidad: para las vacunas de uso humano y veterinario según las técnicas descritas en la Monografía de la OMS N° 23 sobre rabia. En las vacunas de tipo Fuenzalida se realiza igualmente otra prueba similar en ratones lactantes de 3-5 días y a la dosis de 0,01 cc. Estas pruebas de inocuidad se efectúan en cada lote de vacuna.
- b) Las pruebas de potencia que se realizan son las siguientes:
Vacunas humanas: test de Habel. Vacunas de uso veterinario de bajo pasaje, según la técnica descrita en el curso teórico-práctico sobre rabia realizado en el Instituto Malbrán, auspiciado por el Centro Panamericano de Zoonosis en Buenos Aires en el año 1965. Estas pruebas se efectúan cada 2 ó 3 lotes de vacuna.

5.4. Recién a partir del presente año (1967) estamos preparando suero antirrábico hiperinmune en caballos, de acuerdo con el protocolo de inmunizaciones descrito por Fuenzalida, y realizando la concentración del suero por el método de digestión.

U R U G U A Y

1. — INFORMACION BASICA *

Datos sobre población humana, canina y bovina

Departamentos	Pobl. humana *	Pobl. canina **	Pobl. bovina ***
Montevideo	1.295.380	325.000	
Artigas	54.246	13.560	613.161
Canelones	271.561	67.890	186.096
Cerro Largo	73.278	18.320	800.118
Colonia	109.010	27.250	273.093
Durazno	54.037	13.510	549.036
Flores	24.040	6.010	234.421
Florida	65.074	12.270	530.814
Lavalleja	66.414	16.600	547.404
Maldonado	65.115	16.280	200.099
Paysandú	91.211	22.800	603.626
Río Negro	49.091	12.270	463.054
Rivera	80.844	20.210	487.810
Rocha	57.018	14.250	521.649
Salto	95.745	23.930	605.391
San José	79.405	19.850	239.765
Soriano	81.204	20.300	445.310
Tacuarembó	78.551	19.640	865.389
Treinta y Tres	44.624	13.060	504.927
TOTAL	2.735.848	684.000	8.671.163

* Según Censo 1963, actualizada a 1966.

** De acuerdo a cálculos estimativos por la cifra de vacunados y por muestreos al azar.

*** Censo agropecuario de 1961.

2. — RABIA ANIMAL

2.1.

Casos de rabia animal confirmados por laboratorio

Especie	1962	1963	1964	1965	1966
Perros	3		10	235	418
Gatos	1		1	38	92
Bovinos	1		1	4	4
Otros				4	6
TOTAL	5		12	281	520

* Ministerio de Salud Pública.

2.2. Se estima al Departamento de Rivera y parte del de Cerro Largo como áreas enzoóticas de rabia.

2.3. El primer programa de lucha antirrábica elaborado, ejecutado y evaluado ha sido realizado por la Comisión Ejecutiva Intermunicipal de Lucha Antirrábica (Comando Antirrábico), a partir del 1º de enero de 1966.

Número de perros eliminados: 23.378.

Número de perros vacunados: 379.279.

Vacunas usadas: Producida por el M.S.P., tipo Fuenzalida-Palacios (96%).

Laboratorio Pitman-Moore (1,5%).

Laboratorio Cyanamid (2,5%).

2.4 No existe comprobación de rabia transmitida por vampiros.

2.5 No se ha realizado control de murciélagos hematófagos.

2.6. No se han comprobado casos de rabia en animales silvestres.

3. — RABIA HUMANA.

3.1. En los últimos 5 años se confirmaron 3 casos de rabia humana, todos ellos confirmados por diagnóstico de laboratorio. Ninguno recibió tratamiento antirrábico.

3.2. Personas atendidas — 1965: 4.096.

— 1966: 12.317.

Personas tratadas — 1965: 1.126.

— 1966: 2.526.

3.3. Vacuna usada en el tratamiento humano: Fuenzalida-Palacios.

Esquema de tratamiento usado: inyecciones de 2 ml. suministradas durante 14 días.

3.4. En el curso del año 1966 se observó un caso de polineuritis y otro de meningoencefalitis. Ambos se recuperaron.

3.5. Se usó suero antirrábico en 6 casos.

4. — DIAGNOSTICO

4.1. Laboratorios que realizan el diagnóstico de rabia:

Sección Zoonosis (Instituto Antirrábico) del Ministerio de S. Pública.

Laboratorio Rubino del Ministerio de Ganadería y Agricultura.

Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República.

Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina.

Métodos diagnósticos empleados:

Investigación de corpúsculos de Negri por el método de Sellers.

Inmunofluorescencia.

Inoculación.

Seroneutralización.

5. — PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. Laboratorios productores de vacuna para uso humano, tipo Fuenzalida-Palacios:

Departamento de Laboratorios de Higiene Pública del Ministerio de Salud Pública (oficial) — 72.545 dosis en 1966.

Laboratorios Lyssa Uruguay S.R.L. (particular) — capacidad de 2.000.000 de dosis.

5.2. Laboratorios productores de vacuna para uso animal:

Departamento de Laboratorios de Higiene Pública del Ministerio de Salud Pública (oficial) — 371.485 dosis de vacuna Fuenzalida en 1966.

Facultad de Veterinaria (oficial) — vacuna tipo Semple.

Laboratorios Santa Elena (particular) — capacidad 200.000 dosis.

Laboratorios Lyssa Uruguay S.R.L. (particular) — capacidad 800.000 dosis.

5.3. Prueba de potencia de Habel.

Prueba de inocuidad: inyección en i/c en ratones adultos y lactantes, cobayos, conejos y en la especie en la cual se va a aplicar.

En los laboratorios oficiales se prueba cada partida.

5.4. No se produce suero antirrábico.

VENEZUELA

1. — INFORMACION BASICA *

Población humana, canina y bovina, por Entidades Federales. Venezuela. 1966

Entidades Federales	Humana	Canina	Bovina
VENEZUELA	8.821.511	882.151	6.789.821
1. Estado Anzoátegui	454.948	45.495	363.701
2. " Apure	132.503	13.250	1.399.668
3. " Aragua	377.589	37.759	84.830
4. " Barinas	170.197	17.020	563.259
5. " Bolívar	258.427	25.843	367.454
6. " Carabobo	453.940	45.394	94.444
7. " Cojedes	83.361	8.336	232.630
8. Distrito Federal	1.543.125	154.313	1.162
9. Estado Falcón	383.031	38.303	248.659
10. " Guárico	286.900	28.690	845.258
11. " Lara	552.199	55.220	248.476
12. " Mérida	301.711	30.171	246.986
13. " Miranda	604.984	60.498	81.623
14. " Monagas	283.048	28.305	153.280
15. " Nueva Esparta	96.578	9.658	3.007
16. " Portuguesa	246.218	24.622	158.926
17. " Sucre	437.637	43.764	30.036
18. " Táchira	448.675	44.867	280.507
19. " Trujillo	354.113	35.411	166.795
20. " Yaracuy	197.629	19.763	67.382
21. " Zulia	1.107.272	110.727	1.120.135
22. Territorio Federal Amazonas	12.371	1.237	2.732
23. Territorio Federal Delta Amacuro	34.151	3.415	28.788
24. Dependencias Federales.	904	90	83

* Dres. Dumith Arteaga, López Adaros y Rosales Gil.

Población humana, canina y bovina, superficie y densidad por regiones geográficas - Venezuela 1966

Z O N A S	P O B L A C I O N			Superficie	DENSIDAD		
	Humana	Canina	Bovina		Humana	Canina	Bovina
1. Costa-montaña (a)	6.971.516	697.152	2.831.640	192.136	36.3	3.6	14.7
2. Llanos (b)	1.481.715	148.171	3.584.905	304.894	4.8	0.4	11.7
3. Bolívar: Total	258.427	25.843	367.454	328.000	1.1	0.1	1.5
subzona urbano-ganadera (c)	(177.275)	(17.728)	(367.454)	(22.199)	(8.0)	(0.8)	(16.5)
" selvática	(81.152)	(8.115)	—	(215.801)	(0.4)	(0.0)	(0.0)
4. Amazonas	12.371	1.237	2.732	175.750	0.07	0.0	0.01
5. Islas (d)	97.482	9.748	3.090	1.270	76.7	7.6	2.4
Venezuela	8.821.511	882.151	6.789.821	912.050	9.6	0.9	7.4

(a) incluye 21 Municipios del norte de Anzoátegui.

(b) incluye 47 Municipios del sur de Anzoátegui.

(c) incluye 3 Municipios del norte de Bolívar (Ciudad Bolívar, San Félix y Upata).

(d) incluye Dependencias Federales.

(e) estimada en el 10 % de la población humana.

2. — RABIA ANIMAL

2.1.

Casos de rabia animal confirmados por laboratorio
Venezuela. 1962-1966

Especies	Total	Años				
		1966	1965	1964	1963	1962
A. Domésticas						
Perro	2.642	700	488	890	400	164
Gato	54	12	14	17	6	5
Bovino	714	95	138	361	79	41
Caballo	6	1	2	1	2	—
Burro	3	1	—	—	2	—
Cerdo	7	2	—	4	1	—
Cabra	5	—	3	1	1	—
Oveja	5	—	2	2	—	1
SUB TOTAL	3.436	811	647	1.276	491	211
B. Silvestres						
Zorro	5	1	1	—	—	3
Venado	1	—	—	—	—	1
SUB TOTAL	6	1	1	—	—	4
GRAN TOTAL	3.442	812	648	1.276	491	215

2.2. Areas de rabia enzoótica

2.2.0. Rabia doméstica (canina y felina). En el quinquenio 1962-1966 las únicas regiones exentas de la enfermedad, son las islas y las selvas.

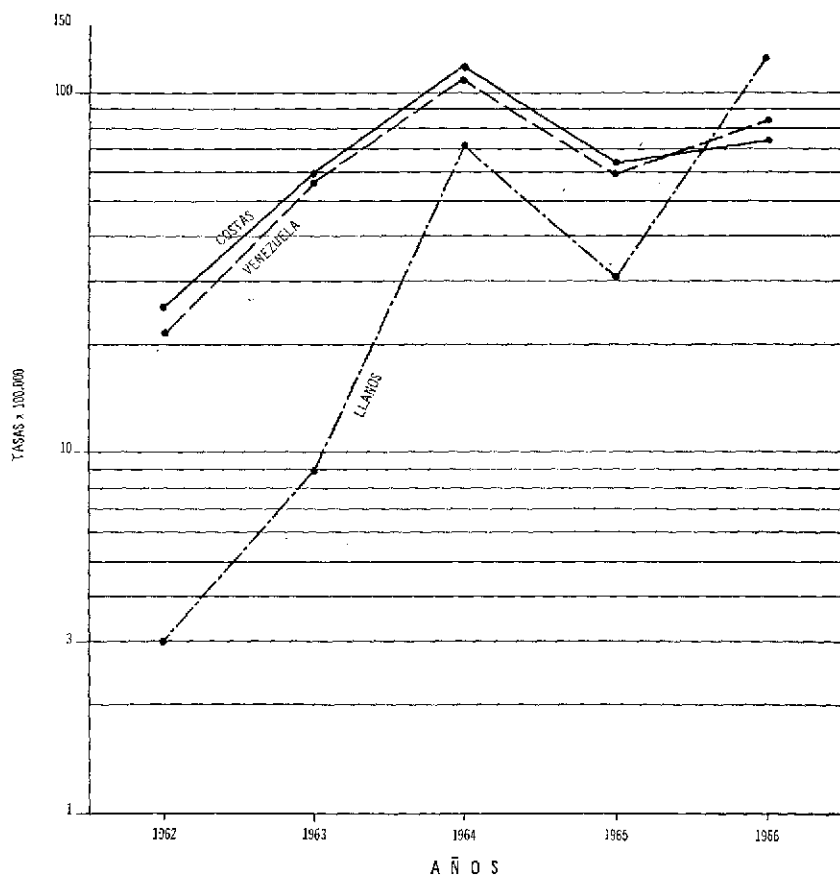
El discreto predominio enzoótico en la región costa-montaña urbana versus la región de los llanos, se puede atribuir a las diferencias de los factores estructurales (urbanización, caminos, desarrollo económico, etc.).

Sobre este fondo enzoótico permanente, se observan brotes epizooticos periódicos que se desplazan a lo largo de la carretera panamericana.

2.2.1. Rabia paralítica bovina. En el quinquenio 1962-1966, la única región exenta es la selva (aparentemente); allí no existe población bovina pero sí el vector. Al revés de lo observado con rabia canina, el territorio insular está infectado y posee la tasa de ataque más alta del país. Se explicaría por la vecindad con Trinidad y la escasez de territorio. En el resto del país, es significativo que las tasas de la costa-montaña urbana son 11 veces mayores que en los llanos.

En el territorio costero enzoótico, los focos principales son: a) Oriente, principalmente Bolívar; b) centro, en lo esencial Miranda; c) Occidente, Zulia y sur del lago de Maracaibo.

Gráfico N. 1
 TASAS DE RABIA CANINA x 100.000 POR REGIONES
 VENEZUELA 1962 / 1966



2. 3.

Programas de control de rabia canina, por regiones - Venezuela - 1962-1966 *

REGION	DATOS	TOTAL	A N O S				
			1962	1963	1964	1965	1966
Costa - montaña urbana	Población canina		635.772	655.556	676.538	695.112	714.887
	Casos: Número	2.304	160	389	792	443	520
	Tasa x 100.000		25.1	59.3	117.0	63.7	72.7
	Eliminación: Número	512.737	61.132	79.970	111.420	121.644	138.571
	Tasa		9.6	12.2	16.4	17.5	19.4
	Vacunación: Número	698.975	108.067	161.231	54.526	215.143	160.008
	Tasa		17.0	24.6	8.0	31.0	22.4
Llanos	Población canina		131.793	135.881	138.769	144.069	148.163
	Casos: Número	339	4	12	98	45	180
	Tasa		3.0	8.8	70.6	31.2	121.4
	Eliminación: Número	15.116			607	4.059	10.450
	Tasa			0.4		2.8	7.0
	Vacunación: Número	24.819			930	11.618	12.271
	Tasa				0.7	8.0	8.2
Venezuela área tratada	Población canina		767.565	791.437	815.337	839.181	863.050
	Casos: Número	2.643	164	401	890	488	700
	Tasa		21.3	50.6	109.1	58.1	81.7
	Eliminación: Número	527.853	61.132	79.970	112.027	125.703	149.021
	Tasa (%)		7.9	10.1	13.7	15.0	17.2
	Vacunación: Número	723.794	108.067	161.231	55.456	226.761	172.279
	Tasa (%)		14.0	20.3	6.8	27.0	20.0

* Se excluyen Islas y Selvas por cuanto no hubo casos ni programas.

Los programas de control de la rabia canina en Venezuela están en manos del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. El Ministerio de Agricultura y Cría coopera en los programas de vacunación, en forma parcial y esporádica, con motivo de epizootias. No existe participación de las municipalidades. Hay una sola perrera municipal, en Caracas, sólo para observación de animales mordedores sospechosos. No hay servicio de captura ni matriculación.

A raíz de epizootias, el gobierno local suele dar apoyo financiero transitorio de emergencia. Hay un solo ejemplo el del Estado Zulia, que da una asignación monetaria hace 7 años.

Respecto a diagnósticos en el país, el Ministerio de Sanidad dispone de tres laboratorios y de 1 el Ministerio de Agricultura. En lo que respecta a observación de animales mordedores sospechosos, ésta se hace a domicilio, con los inspectores de sanidad. La eliminación se hace con bolos tóxicos de estriquina, con personal contratado a destajo, excepto en tres grandes ciudades.

La vacunación la practican los servicios locales. Se cuenta con 13 médicos veterinarios en la región costa-montañosa urbana y 2 en los llanos. Se usa la vacuna LEP elaborada por el Instituto Nacional de Higiene de Caracas. Técnicas: se usa principalmente la vacunación en masa en las escuelas, gracias a la excelente cooperación del Ministerio de Educación. En algunas ocasiones se complementa con vacunación calle por calle. La técnica de vacunación canina casa a casa se abandonó en 1961, y sólo se la reserva para casos especiales, cuando los focos son resistentes.

En 1964 se iniciaron las encuestas epizootiológicas en algunas localidades del centro del país. El control antirrábico se complementa con tareas no sistemáticas de educación sanitaria en las escuelas, y con propaganda ocasional.

En 1959 se creó la Comisión Interministerial Sanidad-Agricultura, que en lo fundamental promovió el interés en torno a estos programas, la cual mejoró sustancialmente la notificación de casos, los laboratorios diagnósticos y las técnicas de vacunación y observación.

2.4.

**Rabia transmitida por vampiros - Población, casos, tasas e inmunizaciones practicadas por el
Ministerio de Agricultura, por regiones geográficas ¹ - Venezuela 1962-1966**

Región	Datos	Total	Años				
			1962	1963	1964	1965	1966
Costa-Montaña	Población bovina		1.675.585	1.997.428	2.084.568	1.614.551	1.717.671
	Casos: Número	1.485	44	179	634	216	412
	Tasas x 100.000		3.1	8.9	30.4	13.4	24.0
Estado Bolívar urbano ganadero	Vacunación: Número	1.213.523	87.900	162.730	391.504	288.795	282.594
	Porcentaje		5.2	8.1	18.7	17.8	16.4
	Población bovina				382.862	375.158	363.454
Islas	Casos: Número	803			167	509	127
	Tasas x 100.000				43.6	135.6	34.9
	Vacunación: Número	117.255			61.205	36.030	20.020
	Porcentaje				17.0	9.6	5.5
Llanos	Población bovina		3.020				
	Casos: Número	7	7				
	Tasas x 100.000		231.7				
Venezuela área tratada	Vacunación: Porcentaje						
	Población bovina		920.411	700.069	1.551.663	788.185	158.926
	Casos: Número	107	10	1.4	51	7	39
	Tasas x 100.000				3.3	0.8	24.5
Venezuela área tratada	Vacunación: Número	168.495	76.200	72.400	9.575	5.310	5.010
	Porcentaje		8.3	10.3	0.6	0.7	3.1
	Población bovina		2.599.016	2.697.497	4.019.093	2.777.894	2.240.051
Venezuela área tratada	Casos: Número	2.402	51	189	852	732	578
	Tasas x 100.000		15.8	7.0	21.1	26.3	25.8
	Vacunación: Número	1.499.273	164.100	235.130	462.284	330.135	307.624
	Porcentaje		6.3	8.7	11.5	11.8	13.7

¹ Sólo incluye las áreas vacunadas en el período.

2. 5.

Medidas de control de murciélagos hematófagos

Desde 1964, el Departamento de Enfermedades Parasitarias del Ministerio de Agricultura, a cargo del Dr. Manuel Pacheco Torres, inició el envenenamiento de murciélagos en ciertas cavernas, fumigando con insecticidas organofosforados (Malathion).

Según el mismo Dr. Pacheco Torres, se calcula que la población de murciélagos de Venezuela sería de unos 40 millones, y en el trienio 1964-1966 eliminaron en promedio anual unos 900.000 ejemplares. Estas cifras incluyen toda clase de especies: vampiros, insectívoros, frugívoros y omnívoros.

No conocemos detalles de la estructura de las poblaciones de murciélagos; se conoce el *Desmodus rotundus*, *Diphylla caudata* y *Phyllostomus hastatus* y no menos de otras 13 especies no hematófagas.

Hasta donde sepamos nosotros, fue el Dr. David Oropeza quien aisló virus rábico en un cerebro de murciélago (no sabemos especies), en el laboratorio de Barquisimeto, en 1965.

2. 6.

Rabia en animales silvestres

En el quinquenio 1962-1966 se diagnosticaron por laboratorio 5 casos en zorros, y a ellos se atribuyen dos casos humanos.

No disponemos de otros datos sobre rabia en zorros u otros animales. Eso sí, se buscó en ratas, con resultados negativos.

3. — RABIA HUMANA

3. 1.

**Rabia humana, según tipo de diagnóstico y tratamiento
Venezuela 1962-1966**

Años	Resumen				Casos conocidos y diagnosticados por:					
	Total	Casos conocidos		Casos Ignorados *	Laboratorio			Clínica y Epidemiología		
		Tratados	No Tratados		Sub Total	Tratados	No Tratados	Sub Total	Tratados	No Tratados
1966	19	1	18	—	10	—	10	9	1	8
1965	15	3	8	4	6	1	5	5	2	3
1964	19	5	13	1	10	2	8	8	3	5
1963	25	3	15	7	14	3	11	4	—	4
1962	21	—	10	11	4	—	4	6	—	6
Gran Total	99	12	64	23	44	6	38	32	6	26

* Casos ignorados: se refiere a aquellos casos diagnosticados como rabia humana, pero de los cuales no se dispone de datos seguros respecto a la confirmación por el laboratorio y/o los datos del tratamiento.

3. 2.

**Frecuencia de las mordeduras sospechosas de rabia y de los
tratamientos antirrábicos
Venezuela 1965-1966**

Años	Personas mordidas		Personas tratadas	
	Número	Tasas por 100.000 Hab.	Número	% de los mordidos tratados
1966	44.337	503	9.393	21
1965	8.323	447	9.874	26

3. 3.

Tipo de vacuna y guía de tratamiento

A) El Instituto Nacional de Higiene, de Caracas, desde 1955 hasta junio de 1965, utilizó vacuna tipo Semple, preparada en encéfalo de carnero, en una emulsión final al 4%, inactivada con fenol al 0,5% y mertiolato al 1 x 5.000. Se preparan lotes de 500 a 700 tratamientos completos (14 dosis cada uno) por mes.

La dosis unitaria es de 2 ml., vía subcutánea. Guía para el tratamiento: se sigue el esquema del anexo A, que en síntesis, en los casos indicados, prescribe 14 dosis, una diaria, para los casos leves. En los casos graves (mordeduras en cabeza, cara, cuello, dedos de la mano, múltiples, desgarrantes o inferidas por animales silvestres), se mantienen las mismas 14 dosis, pero agregando suero antirrábico en las primeras 72 horas, a razón de 40 unidades por Kg. de peso. En los casos que reciben suero antirrábico se colocan refuerzos con vacuna HEP de 206 pares, 0,2 cc. intradérmica, al 10° ó 20° día de terminado el curso básico de 14 dosis.

Cuando no se disponía de suero, se indicaba 21 a 28 dosis de vacuna, con dos dosis diarias.

B) En el año 1965 el Instituto Nacional de Higiene inició la producción de vacuna en cerebro de ratón lactante (C.R.L.) inactivada según las técnicas de Fuenzalida-Palacios por rayos ultravioletas. Emulsión final al 1 %, dosis unitaria de 2 c. c.; con respecto a la guía de tratamiento, continuaron vigentes las mismas que en el caso de la Semple.

3. 4.

**Accidentes neurolíticos post-vacunales
Venezuela 1960 - abril 1967**

Años	Nº Vacunados	Nº Accidentes	Tipo de vacuna	Proporción de accidentes en vacunados
1960	4.332	1	Semple (Inst. Nac. H.)	1 x 4.332
1961	5.504	1	" " " "	1 x 5.504
1962	6.003	1	" " " "	1 x 6.003
1963	9.831	2	" " " "	1 x 4.915
1964	7.494	1	" " " "	1 x 7.494
1965	9.874	3	" " " "	1 x 3.291
1966	9.393	0	C. R. L. (INH)	0
1967				
Ene-Mayo	4.980	7	C. R. L. (INH)	1 x 711
Jun-Agos.	5.006	0	C. R. L. (INH)	0
Jun-Agos.	182	0	Embrión de Pato (USA)	0

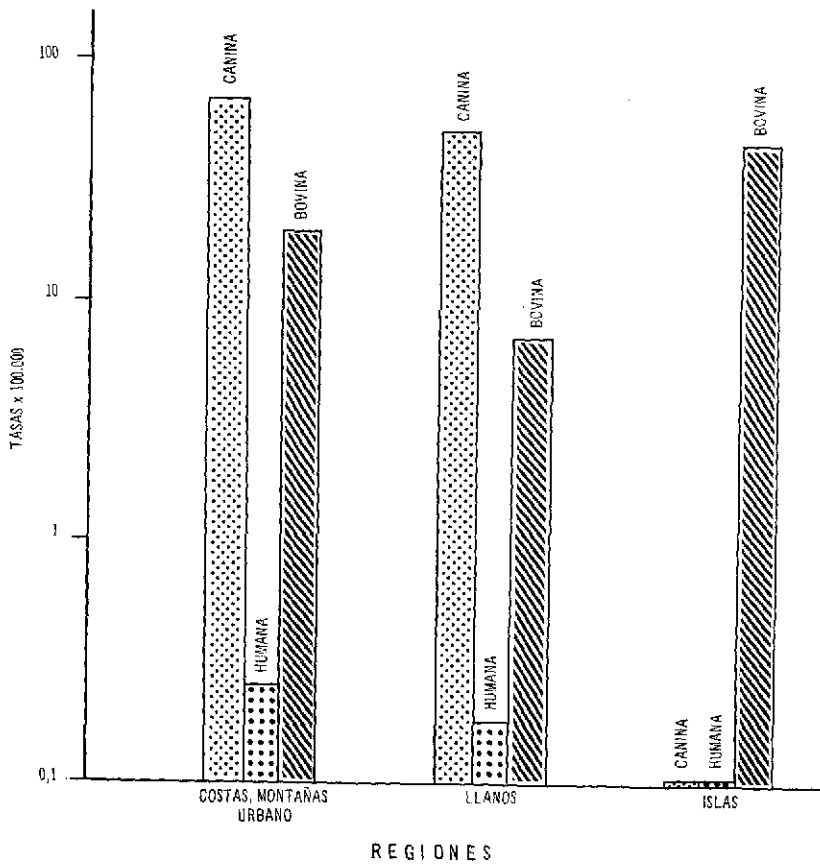
3. 5.

**Suero antirrábico hiperinmune aplicado
Venezuela 1961-1967**

Años	Número de Unidades Internacionales	País de Origen	Marca
1961	4.047.000	USA	Lederle
1962	4.000.000	USA	"
1963	4.700.000	USA-Francia	"
1964	4.700.000	USA	"
1965	3.000.000	USA	"
1966	5.000.000	USA	"
1967	4.000.000	USA-Brasil	Lederle-Butantán

Grafico N. 2

TASAS DE RABIA PROMEDIALES x 100.000 SEGUN ESPECIES Y REGIONES
VENEZUELA 1962-1966



4. — DIAGNOSTICO

4. 1. Laboratorios y métodos diagnósticos de la rabia en Venezuela

4.1.0. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (I). En 1938 se creó el Instituto Nacional de Higiene, en Caracas, y allí se practican los métodos clásicos (a) directo, usando la técnica de Sellers para buscar corpúsculos de Negri; (b) biológico, inoculando ratones. Hasta este momento no se realizan exámenes de inmunofluorescencia. Este Instituto adiestra personal y sirve de referencia para otros laboratorios.

(II) En 1948-49 se creó el laboratorio de Maracaibo, a unos 1.000 Km. al oeste de Caracas, cerca de la frontera colombiana. Allí usaron los métodos clásicos de directa y biológica hasta fines de 1966, en que incorporaron las técnicas de los anticuerpos fluorescentes.

(III) En 1962 se creó el laboratorio de Barquisimeto, situado casi equidistante de los dos anteriores. Hasta fines de 1966 usan métodos clásicos, luego se agregó la técnica de anticuerpos fluorescentes.

En fase experimental inicial están los laboratorios, dotados incluso de recursos para anticuerpos fluorescentes, en las ciudades de San Cristóbal y Barcelona.

4.1.1. Ministerio de Agricultura y Cría (IV). En 1938-1952 primero en Caracas y desde 1953 en la ciudad de Maracay, a unos 100 Km. al oeste de Caracas, funciona el Centro de Investigaciones Veterinarias. A diferencia de los tres laboratorios anteriores, éste recibe casi el 100% de las muestras bovinas, sin perjuicio de analizar una cuota sustancial de encéfalos de perros y gatos. Se usan las técnicas directa y biológica clásicas. En 1966 se agregaron anticuerpos fluorescentes.

4.1.2. Universidad Central de Venezuela. Desde 1966, la Cátedra de Microbiología de la Escuela de Bioanálisis trabaja en forma experimental con los métodos directo, biológico y anticuerpos fluorescentes, con miras a establecer correlaciones y de valorar algunos procedimientos adicionales: búsqueda de virus en glándulas salivales y resultados de los anticuerpos en los encéfalos de ratones que se sacrifican precozmente, a partir del 4º día de inoculados.

5. — PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS

5.1. Producción de vacuna antirrábica para uso humano. Como se indicó antes en el punto 3.3. de la sección rabia humana, hasta 1965 el Instituto Nacional de Higiene de Caracas, elaboró vacuna tipo Semple, en cerebro de carnero, al título final del 4%, dosis unitaria 2ml. Desde 1966 este mismo Instituto prepara vacuna en cerebro de ratón lactante (CRL) irradiada con luz ultravioleta, al 1% de todo final, dosis unitaria 2 ml.

Años	Nº trat. completos *	Tipo	Nº de lotes **
1962	10.290	Semple	20
1963	12.496	"	25
1964	14.223	"	28
1965	11.339	"	23
1966	13.434	C. R. L.	27
Total	61.782		123

* Cada tratamiento completo es de 14 dosis de 2 ml. c/u.

** Nº de lotes preparados por año, de tamaño 500 c/u.

5.2.

Producción de vacuna antirrábica para uso animal.

5.2.0. En el período 1962-66 se elaboró vacuna LEP en el Instituto Nacional de Higiene (Ministerio de Sanidad), según se detalla seguidamente.

Años	Nº de dosis	Tipo	Nº de lotes
1962	130.449	LEP	13
1963	182.919	"	18
1964	135.097	"	13
1965	271.427	"	27
1966	221.905	"	22
Total	941.797		93

5.2.1. En el período 1962-66 se elaboró vacuna HEP en el Centro de Investigaciones Veterinarias de Maracay, del Ministerio de Agricultura, para uso bovino. Además se preparó vacuna Semple para bovinos y LEP para bovinos (experimental) según se detalla seguidamente.

Tipos	Total	1962 Dosis	1963 Dosis	1964 Dosis	1965 Dosis	1966 Dosis
Semple ¹	75.829		19.339	13.068	31.500	11.922
HEP ²	1.628.885	165.600	249.410	485.675	323.445	404.755
LEP	65.460				65.460	
	1.770.174	165.600	268.749	498.743	420.405	416.677

¹ Vacuna bovina, cada dosis equivale a 50 ml.

² Vacuna bovina, cada dosis equivale a 3 ml.

5.3.

Pruebas de potencia e inocuidad.

5.3.0. Vacunas de uso humano y animal preparadas por el Instituto Nacional de Higiene. En el quinquenio 1962-66, fueron utilizadas cepas que se consiguieron en la Organización Mundial de la Salud, para Semple y LEP y la cepa proporcionada por el Dr. E. Fuenzalida, para la vacuna C.R.L. Respecto a pruebas de potencia e inocuidad, se utilizaron las pruebas clásicas, con una frecuencia poco adecuada. Los resultados de estas pruebas se estiman limitados por cuanto las condiciones técnicas en que se realizaban no siempre se ajustaron fielmente a las normas.

Con miras a mejorar la situación descrita, el Ministerio de Salud con la asesoría de la Oficina Panamericana de la Salud y el Centro Panamericano de Zoonosis, lleva adelante un programa de reformas.

ANEXO A

RABIA - TRATAMIENTO HUMANO

Ministerio de Sanidad y Asistencia Social

Dirección de Salud Pública

Departamento de Demografía y Epidemiología

División de Epidemiología

Recomendaciones para el tratamiento de las personas expuestas al riesgo de contraer rabia

(Redactadas de acuerdo con el Cuarto Informe del Comité de Expertos en Rabia, 1930. - Series de Informes Técnicos de la O. M. S.)

Este plan es aplicable aun cuando el animal mordedor haya sido vacunado previamente

Naturaleza de la Exposición al Riesgo	Condición del animal mordedor		Tratamiento Recomendado (Nota: se debe administrar tratamiento local) (2)
	En el momento de la exposición	Durante el período de observación de diez días	
I. Contacto indirecto sin lesión.	Rabioso		Ninguno ²
II. Lamedura o contacto estrecho con la saliva del animal: 1) Sin abrasión de la piel. 2) Con abrasión o rasguños de la piel o con abrasión o sin ella de las mucosas.	Rabioso		Ninguno ²
	a) Sano	Sano	Ninguno ²
	b) Sano	Signos clínicos de rabia, muerte o rabia comprobada por el laboratorio ¹	Comenzar la vacunación en cuanto se observen los primeros signos de rabia del animal o si muere ²
	c) Signos indicativos de rabia.	Sano	Comenzar la vacunación inmediatamente. Suspender el tratamiento si el animal sigue normal al 5º día de la exposición ²
	d) Rabioso, exterminado, escapado o desconocido		Comenzar la vacunación inmediatamente ²

III. Mordedura:	a) Sano	Sano	Ninguno ²
	b) Sano	Signos clínicos de rabia, muerte o rabia comprobada por el laboratorio ¹	Comenzar la vacunación a los primeros signos de rabia en el animal o si muere ²
	c) Signos indicativos de rabia	Sano	Comenzar la vacunación inmediatamente. Suspender el tratamiento si el animal sigue normal al 5º día de la exposición ²
	d) Rabioso, escapado, exterminado o desconocido		Comenzar la vacunación inmediatamente ²
	e) Cualquier mordedura de zorro, murciélago u otro animal silvestre		Suero inmediatamente, seguido de vacuna ²
1) Leve	a) Sano	Sano	Suero inmediatamente, no vacunar mientras el animal esté normal.
	b) Sano	Signos clínicos de rabia, muerte o rabia comprobada por el laboratorio ¹	Suero inmediatamente, comenzar la vacunación al primer signo de rabia en el animal o si muere.
	c) Signos indicativos de rabia	Sano	Suero inmediatamente, seguido de vacuna, se puede suspender la vacuna si el animal sigue normal al 5º día de la exposición.
	d) Rabioso, escapado, exterminado o desconocido	}	Suero inmediatamente, seguido de vacuna ²
	e) Cualquier mordedura de animal silvestre		
2) Grave (mordeduras múltiples o de la cara, cabeza, dedos o cuello).	a) Sano	Sano	Suero inmediatamente, no vacunar mientras el animal esté normal.
	b) Sano	Signos clínicos de rabia, muerte o rabia comprobada por el laboratorio ¹	Suero inmediatamente, comenzar la vacunación al primer signo de rabia en el animal o si muere.
	c) Signos indicativos de rabia	Sano	Suero inmediatamente, seguido de vacuna, se puede suspender la vacuna si el animal sigue normal al 5º día de la exposición.
	d) Rabioso, escapado, exterminado o desconocido	}	Suero inmediatamente, seguido de vacuna ²
	e) Cualquier mordedura de animal silvestre		

¹ Se deben hacer todos los esfuerzos por practicar los correspondientes exámenes de laboratorio, pues además de ser un importante auxiliar para el diagnóstico de la causa de la muerte del perro, estos hallazgos son de gran valor epidemiológico.

² Véanse las notas explicativas.

NOTAS EXPLICATIVAS

Todos los casos de mordeduras o arañazos de animal en el hombre deben recibir inmediatamente tratamiento local. En la herida por mordeduras al lavado minucioso con jabón u otro detergente y mucha agua, puede seguir, siempre que la localización lo permita, una adecuada aplicación de ácido nítrico concentrado. En lo posible, se evitará la sutura inmediata de la herida.

Cuando por las circunstancias de la exposición esté indicada la administración de suero, una parte de la dosis se infiltrará, siempre que sea posible, en los tejidos subyacentes a la herida.

Las indicaciones del Cuadro se fundan en los principios generales que a continuación se enuncian: En caso de exposición leve, bastará completar el tratamiento local ya indicado con una serie de 14 dosis de vacuna, una diaria; pero cuando la exposición sea grave, o cuando un animal salvaje muerde sin haber sido provocado o tratase de mordeduras de murciélagos, habrá de aplicarse el tratamiento general completo de suero antirrábico y 21 dosis de vacuna: una diaria. Tanto la vacunación simple como el tratamiento combinado de suero antirrábico y vacuna, han de iniciarse lo antes posible después de la exposición directa. El suero debe administrarse de una sola vez desde el comienzo del tratamiento a razón de 40 unidades internacionales por Kg. de peso cuando menos (nunca menos de 1.000 unidades, como sería el caso de personas con peso por debajo de 25 Kg.) a lo que seguirá una serie de 14 dosis de vacuna, como mínimo, en días consecutivos. El suero puede administrarse hasta 72 horas después de la exposición. Cuando el suero no haya podido aplicarse dentro de este lapso o no se disponga de él, y se trate de mordedura grave, se aplicarán dos dosis diarias de vacuna durante 14 días; total: 28 dosis. Se ha propuesto que cuando a la administración de suero siga un ciclo completo de vacunación se apliquen otras dos dosis de vacuna a los 10 y a los 20 días de la última dosis del ciclo. Estas dos dosis de refuerzo consistirán en inyecciones de 0,2 c. c., por vía intradérmica, de la vacuna de alto pasaje a virus vivo modificado preparada por el Instituto Nacional de Higiene.

En caso de que una persona previamente vacunada con una serie completa, sufra una nueva exposición dentro del año siguiente a la vacunación, si es leve bastará una dosis de refuerzo de 0,2 c. c. intradérmica de la vacuna de alto pasaje; pero si la nueva exposición es grave, tendrá que someterse al tratamiento clásico combinado de suero y vacuna. El ciclo de administración de vacunas puede comen-

zar en cualquier momento, si es que no pudo iniciarse desde el primer día de la exposición. Si por alguna razón se interrumpe el ciclo de administración de vacunas, la vacunación podrá continuarse al reaparecer el paciente. Las vacunas se aplicarán por vía subcutánea, abdominal, cambiando de sitio cada inyección.

Deberá investigarse de antemano la sensibilidad al suero. (Ver "Reacciones Séricas").

Las precedentes instrucciones tienen un carácter de orientación general. En determinados casos las circunstancias justifican el empleo de métodos distintos de los que indica el Cuadro. Así ocurre, por ejemplo, cuando el paciente es un niño de corta edad o cuando no se conocen con certeza las particularidades de la exposición, sobre todo en zonas en que la rabia es endémica y en que debe iniciarse el tratamiento aunque el animal parezca sano en el momento de la mordedura. Si se trata de casos en que procede aplicar una pauta modificada, las modificaciones pueden consistir, por ejemplo, en la administración de una dosis de vacuna en días consecutivos después de haber aplicado el tratamiento local antes descrito, sin continuar las vacunaciones cuando el animal siga sano diez días después de la mordedura.

Otra situación local que justifica una interpretación modificada de las normas, es la de las zonas exentas de rabia, donde las mordeduras de animales sean frecuentes. Las autoridades sanitarias podrán con razón recomendar en tales casos que no se aplique el tratamiento específico contra la rabia cuando la experiencia clínica y de laboratorio confirme la ausencia de infección en la especie causante de las mordeduras.

Reacciones séricas

Sólo debe emplearse terapéutica sérica cuando está formalmente indicada y únicamente cuando el médico esté provisto de los medios para combatir cualquier reacción que pueda presentarse. Los dos tipos principales de accidentes observados son los siguientes:

1. — *Reacciones agudas de tipo anafiláctico*: Pueden producirse accidentes graves y a veces fatales en las personas sensibilizadas al suero de caballo por una inoculación anterior, y constituyen un verdadero peligro para aquellas que tienen historia de sensibilidad al suero de caballo, a la caspa de caballo, etc. En pocos minutos pueden

aparecer síntomas de urticaria, disnea, cianosis, dolores lumbares o colapso vasomotor y a veces pérdida del conocimiento, y el paciente puede morir.

2. — *Enfermedad sérica*: Este estado lo presentan ciertas personas al ser inoculadas con el suero por primera vez y, aún más a menudo, las personas que han recibido inyecciones de suero con anterioridad. Los síntomas pueden presentarse de unas horas a varios días después de la segunda inyección de suero, o bien alrededor de 5 a 10 días después de la primera inyección. Los principales síntomas son los de urticaria, adenopatía, artritis y fiebre.

Precauciones: Antes de inyectar un suero animal o un producto a base de suero animal, es indispensable reconstruir cuidadosamente la historia del paciente. Hay que investigar sobre posible asma, polinosis, urticaria e inyecciones anteriores de suero. Los pacientes que presenten historia de asma, rinitis vasomotora u otros síntomas alérgicos al ser expuestos a caballos o conejos, pueden ser peligrosamente sensibles al suero correspondiente y no deben recibirlo a menos que sea con extremo cuidado. Una historia de alergia no relacionada con las especies de animales de las cuales procede el suero, indica que hay que obrar con precaución pero que no hay peligro claro o inmediato. Una historia de administración anterior de suero aumenta la probabilidad de que el paciente experimente enfermedad sérica después de la segunda inyección.

Pruebas de sensibilidad: Es necesario practicar pruebas cutáneas y oftálmicas de sensibilidad al suero antes de inocular cualquier suero, haya o no recibido el paciente ese suero con anterioridad. La dosis recomendada para la prueba cutánea es de 0,1 c. c. de una solución salina al 1 : 100 del suero a usarse, inyectada intracutáneamente. En las personas con historia de alergias, se recomienda reducir la dosis a 0,05 c. c. de una solución del suero al 1 : 1.000 por vía intracutánea. La lectura de la reacción se practica a los 10-30 minutos, y si aparece pápula, es positiva.

Salvo en los niños pequeños, la prueba oftálmica es más sencilla y es menos probable que revele reacciones no específicas. Una gota de una dilución del suero al 1 por 10 en suero fisiológico, controlado mediante una gota de suero fisiológico en el otro ojo, puede mostrar una reacción positiva en 10 a 30 minutos, consistente en lacrimo y conjuntivitis.

No se ha tenido conocimiento de ninguna prueba oftálmica fatal, pero entre las pruebas cutáneas sí ha habido casos mortales. Por lo tanto, jamás se debe inyectar ningún suero o practicar ninguna prueba cutánea sin tener al alcance de la mano una jeringa con 1 c. c. de epinefrina al 1 por 1000.

Las pruebas cutáneas y, aún más específicamente, las pruebas oftálmicas, pueden servir de señales de advertencia que indican la probabilidad de sensibilidad. Sin embargo, una prueba cutánea u oftálmica negativa no constituye garantía absoluta de ausencia de sensibilidad. Por consiguiente, la presencia, sea de una historia positiva de "alergia", sea de una prueba cutánea u oftálmica positiva con suero de caballo, es razón suficiente para usar el suero con cautela especial. Una historia positiva de sensibilidad al caballo (o conejos, según el caso), es indicio de que es preciso proceder con *máxima* precaución según se indicó anteriormente. En tal situación hay que pensar en la posibilidad de usar suero proveniente de algún otro animal. La Compañía Merck Sharp and Dohme, de West Point, Pennsylvania, distribuye antitoxina tetánica bovina.

Procedimientos: Dada una historia negativa y una prueba negativa de sensibilidad, la dosis indicada de suero puede aplicarse intramuscularmente. En situaciones en que una alta concentración sérica es imprescindible, puede estar indicada la inyección por vía intravenosa. Si está indicada la inyección *intravenosa*, hay que administrar una dosis preliminar de 0.5 c. c. de suero diluido en suero fisiológico o solución de glucosa al 5 % en la proporción de 0,5 c. c. a 10 c. c. de diluyente. Esta dosis preliminar debe darse tan despacio como sea posible, observando al paciente durante media hora para ver si presenta alguna reacción. Si no ocurre ninguna, puede administrarse el resto del suero, diluido al 1 por 20 según se indica arriba, a una velocidad no mayor de 1 c. c. por minuto.

Si una precaución general está indicada (debido a una prueba cutánea positiva o a historia de alergia) y no cabe duda acerca de la necesidad de la aplicación del suero (teniendo epinefrina a mano), se puede aplicar 1 c. c. de una dilución del suero al 1 por 10 en suero fisiológico por vía subcutánea. Luego hay que observar al paciente durante media hora. Si no ocurre ninguna reacción, adminístrese subcutáneamente 1 c. c. de suero no diluido, observando después por otra media hora. Si esta vez tampoco hay reacción, se puede proceder en la forma indicada en el párrafo precedente.

Si la historia del paciente o la prueba oftálmica o/y cutánea indican una sensibilidad específica al suero en cuestión; si no hay manera de obtener suero de una especie animal diferente; y si hay urgencia en la administración del suero, éste puede aplicarse cuidadosamente controlado, aumentando progresivamente la dosis hasta llegar al límite en el cual el paciente ya no tolera más aumento. Este procedimiento es comúnmente llamado "desensibilización", pero sería peligroso suponer que se efectúa desensibilización alguna en grado significativo, más probablemente este procedimiento sólo conduce a la determinación del nivel de tolerancia del paciente. Un procedimiento satisfactorio es el siguiente:

Inocular las dosis siguientes cada 15 minutos, a menos que se observe alguna reacción:

- a) 0,05 c.c. de dilución al 1 por 20, por vía subcutánea.
- b) 0,1 c.c. de dilución al 1 por 10, por vía subcutánea.
- c) 0,3 c.c. de dilución al 1 por 10, por vía subcutánea.
- d) 0,1 c.c. de suero no diluido por vía subcutánea.
- e) 0,2 c.c. de suero no diluido por vía subcutánea.
- f) 0,5 c.c. de suero no diluido, intramuscularmente.
- g) Inyectar la dosis terapéutica restante lentamente, reduciéndola a la mitad cada vez que aparezca algún signo de reacción desfavorable.

Tratamiento: Las reacciones anafilácticas agudas al suero constituyen emergencias críticas. Hay que inyectar epinefrina inmediatamente por vía intravenosa, 0.5 c.c. de una dilución al 1 por 1000 en suero fisiológico. La dosis debe ser proporcionalmente menor para niños. Si la respuesta no es satisfactoria, repítase al cabo de 1 a 15 minutos. En casos de grave urticaria o edema, especialmente edema de la laringe, están indicadas las inyecciones intramusculares de dosis completas de antihistamínicos. El ACTH o la cortisona pueden ser aconsejables y útiles. Si hay que reanudar la terapéutica sérica, espérese hasta que hayan desaparecido todos los signos visibles de la reacción, lo cual puede durar hasta 6 u 8 horas.

La enfermedad sérica puede ser aliviada con salicilatos, antihistamínicos, efedrina, ACTH o cortisona; también puede resultar útil el gluconato de calcio por vía intravenosa.

Reacciones febriles: Estas reacciones, subsiguientes a la administración del suero, ocurren ya muy raramente, debido a que todo suero autorizado para la venta en los Estados Unidos debe pasar por una prueba de ausencia de acción pirógena. Las reacciones térmicas benignas pueden ser tratadas con salicilatos y con el tratamiento sintomático habitual de una fiebre, y sin embargo, las reacciones térmicas de gravedad pueden causar la muerte debido a la hiperpirexia. Estas reacciones deben ser tratadas no solamente con salicilatos sino también con baños de esponja con alcohol o cualquier método disponible que reduzca la temperatura.

Material necesario para la prueba de sensibilidad: Jeringa de Insulina o Tuberculina. Aguja N° 26 de bisel corto.

Dilución para la prueba intradérmica: tomar 0,1 c.c. de suero antirrábico (antidiftérico, antitetánico, antiofídico, etc.) y 0,9 c.c. de suero fisiológico; agitar para mezclar. Rediluir 0,1 c.c. de esta mezcla con 0,9 c.c. de suero fisiológico, obteniéndose así una dilución al 1/100.

Aplicar en la cara anterior del antebrazo 0,1 c.c. intradérmico; si la infiltración papulosa mide 1 cm. o más, la reacción es positiva.

Material necesario para la desensibilización: Jeringa de 10 c.c. con agujas Nos. 22 ó 23, largas.

Nota final: Puede presentarse una situación difícil, en el caso de un mordisco grave por animal rabioso, con antecedentes alérgicos confirmados por las pruebas intradérmica y oftálmica positivas y que tiene fuertes reacciones en el curso de la desensibilización. En estos casos especiales, algunos autores ingleses recomiendan sustituir el suero antirrábico por dosis apropiadas de gamma globulina (0,25 c.c. por Kg. de peso) seguida de vacuna.

PARTE III

INFORME FINAL

La exhaustiva y profunda consideración de cada uno de los temas del Seminario exime y al mismo tiempo impide desarrollar con toda la precisión deseada los problemas que aquí se han abordado. Pedimos por eso disculpas a los expositores y participantes si en este informe final han ocurrido omisiones involuntarias.

I. Situación de la rabia en el Continente. La importancia de un registro adecuado.

La significación del problema en el Continente, desde el punto de vista de la salud y la economía, se refleja claramente en los informes proporcionados por los países, pero la parcialidad e irregularidad de los datos limita su utilidad como instrumento para la evaluación de la situación continental. Resulta evidente la necesidad de desarrollar un sistema uniforme para la obtención de informaciones realistas y cada vez más fehacientes sobre la rabia y los programas para su control.

1) Se reconoce que, por razones de organización política y administrativa, puede haber en cada país varias agencias a cargo de la obtención de datos sobre rabia. Sin embargo, la información que se debe transmitir a las instituciones internacionales y a otros países deberá unificarse en documentos de validez nacional.

Para aumentar la utilidad de los informes nacionales y facilitar su interpretación, se recomienda que las tablas numéricas con datos estadísticos vayan acompañadas de una descripción resumida y, cuando corresponda, de mapas y gráficos. Por ejemplo, es aconsejable señalar si los casos de rabia están ocurriendo en áreas fronterizas, si están produciéndose cambios en la incidencia de la enfermedad con propagación a regiones previamente indemnes o si han ocurrido fenómenos dignos de mención (variaciones de densidad, mayor incidencia, etc.), en las poblaciones humanas o animales implicadas. Es conveniente insistir sobre la importancia de que todos esos cambios en la situación sean informados con la mayor celeridad posible.

2) Con el fin de dejar establecido a la brevedad un sistema eficiente de informes rutinarios, se estima conveniente la adopción de una forma simplificada del cuestionario, al menos hasta que la mayor confiabilidad de los datos obtenidos permita extender el campo de información. Se tiene entendido que la OMS está estudiando la utilización de un nuevo cuestionario simplificado.

Aún cuando ciertos datos no sean específicamente solicitados en el nuevo cuestionario, se recomienda a los países que, en su propio interés, desarrollen los medios para obtener y registrar información completa sobre los siguientes puntos que, salvo ligeras diferencias en el orden, están en su mayoría contenidos en el cuestionario de la OMS empleado hasta ahora:

- a) Poblaciones humana, canina y bovina. Con respecto a la población canina su estimación debe ser realista y basarse en observaciones y/o muestreos realizados en las distintas áreas, en vez de hacerla por aplicación de fórmulas arbitrarias.
- b) Casos de rabia en seres humanos y en las distintas especies animales, incluyendo la ubicación geográfica del incidente, los datos sobre confirmación de laboratorio y, cuando fuere posible, la especie animal responsable de la exposición.
- c) Registro de los laboratorios que realizan diagnóstico de rabia y métodos utilizados.
- d) Programas de control.
 - 1) Destrucción de animales sueltos y no vacunados.
 - 2) Vacunación canina: número de animales, tipo de vacuna.
 - 3) Vacunación bovina: número de animales, tipo de vacuna.
 - 4) Tentativas de control de reservorios silvestres; métodos y resultados.
- e) Tratamiento de seres humanos expuestos.
 - 1) Número de personas expuestas y animales involucrados, clasificados por área geográfica.
 - 2) Número de personas que reciben tratamiento, clasificadas por: motivo de considerarlas expuestas, edad, área geográfica, administración de suero y esquema de vacunación adoptado.
 - 3) Número de accidentes postvacunales, neuroparalíticos y de otra clase.
- f) Producción de vacuna.

La responsabilidad de asegurar el empleo de vacunas seguras y potentes corresponde a las autoridades de Salud Pública y Agricultura en sus respectivos campos. Además del registro e inspección regular de los laboratorios por las autoridades y del ensayo periódico de muestras por el laboratorio oficial, es necesario determinar con índices numéricos la cantidad y calidad de la producción mediante el registro de la siguiente información:

1) Por laboratorio.

Nombre del laboratorio.

Número total de dosis producidas para cada una de las especies (humana, canina, bovina).

Método de producción.

Número de partidas.

Número de protocolos de manufactura aprobados.

Número de ensayos en laboratorios oficiales con los resultados obtenidos.

2) Número total de dosis de vacuna producidas en el país.

II. Diagnóstico.

1) La necesidad de obtener el diagnóstico en forma rápida y segura para decidir sobre la aplicación del tratamiento a personas expuestas requiere:

- a) Establecimiento de una red de laboratorios zonales de fácil acceso, íntimamente relacionados con la administración sanitaria local (humana y animal), provistos de personal adiestrado, equipos, reactivos y otros recursos suficientes para el propósito perseguido.
- b) Sistemas adecuados de recolección y envío de las muestras.
- c) Laboratorio central con funciones de supervisión y referencia para apoyo de los laboratorios periféricos.

La eficiencia de este sistema permitirá reducir los costos de atención médica directos e indirectos, permitiendo así la aplicación de mayores recursos para la prevención de esta enfermedad.

2) Los métodos de diagnóstico clásicos (coloración de Sellers o Mann e inoculación al ratón), deberán ser reforzados con la técnica de inmunofluorescencia que por su celeridad y confiabilidad cumple con los requisitos esenciales para tomar decisiones adecuadas con respecto al tratamiento humano. Se recomienda no depender exclusivamente de esta técnica hasta que la experiencia así lo aconseje.

3) Se ha señalado que con cierta frecuencia el diagnóstico clínico de la rabia no es confirmado por el laboratorio. Estos casos disminuirán a medida que se mejoren la coordinación y relación entre los profesionales de campo y el laboratorio. Es, así mismo, aconsejable que los laboratorios extiendan sus estudios etiológicos a otros agentes que pueden ser motivo de confusión diagnóstica.

III. Aspectos epidemiológicos, ecológicos y patogenéticos.

1) Rabia doméstica (canina, felina).

Se considera necesario incrementar los estudios sobre estructura y dinámica de las poblaciones animales involucradas y la influencia de los grupos humanos en el manejo de estas poblaciones. La incidencia de la enfermedad en estas especies como también la epidemiología de las mordeduras, deberán ser objeto de investigaciones tendientes a determinar los daños que ellas causan para la salud y la economía. Sólo así se podrán mejorar los métodos para reducir estos daños y al mismo tiempo, presentar el problema en todo su valor a los responsables de la provisión de recursos.

2) Rabia en animales silvestres.

El incremento de este aspecto del problema de la rabia indica la necesidad de continuar y ampliar los programas de carácter ecológico que se vienen realizando y que fueron tan ampliamente expuestos en el curso de este Seminario.

Entre los aspectos que merecen especial consideración pueden mencionarse:

- a) Conocimiento sobre la susceptibilidad al virus rábico de las especies silvestres que prevalecen en distintas regiones del continente.
- b) Papel de las vías respiratorias (aerosoles) y oral (canibalismo) como puertas de entrada.
- c) Papel de distintos órganos y tejidos como sitio de multiplicación y mantenimiento de la viabilidad del virus.
- d) Mecanismos de eliminación y transmisión.
- e) Posible significación práctica de las infecciones latentes o crónicas en la conservación del virus en la naturaleza.
- f) Aplicación de los métodos modernos de la virología al estudio de los mecanismos de infección a nivel celular en sus distintas etapas de absorción, penetración, eclipse, multiplicación y paso del virus a otras células; factores ligados al origen de las células, a su estado fisiológico e influencias ambientales.
- g) Estudios sobre la estructura y dinámica de las poblaciones de animales silvestres implicados y sobre la conducta de los mismos en distintas situaciones experimentales o naturales.

IV. Agentes inmunizantes (vacunas y sueros).

Es esencial que los productos biológicos empleados contra la rabia sean producidos siguiendo normas básicas para la elaboración, control, rotulación, transporte, conservación y vencimiento.

Se recomienda especialmente:

- 1) El uso de una cepa uniforme y reconocida como altamente antigénica, partiendo para todos los lotes de una semilla estable.
- 2) La preparación de acuerdo a técnicas ya probadas y en partidas de tamaño tal que permitan el control de la calidad de cada una de ellas.
- 3) La realización de pruebas de inocuidad, pureza y potencia de acuerdo con las normas dadas por la Organización Mundial de la Salud para cada tipo de vacuna.

Las vacunas producidas en cultivo de tejido ofrecen interesantes perspectivas que deberán ser investigadas ampliamente antes de su aplicación generalizada.

1. Tratamiento humano.

- a) El consenso de los participantes es que en el momento actual la vacuna que cumple mejor los requisitos de seguridad, potencia y bajo costo es la vacuna de cerebro de ratón lactante inactivada con rayos ultravioletas (Fuenzalida-Palacios). Se espera que los métodos de purificación en desarrollo permitirán reducir aún más los posibles riesgos de la misma.
- b) Uso combinado de vacuna y suero hiperinmune. Se insiste en la conveniencia de estandarizar el suero hiperinmune para asegurar su dosaje de acuerdo a lo recomendado por el Comité de Expertos de la OMS. En cuanto a su aplicación, conviene mencionar algunos aspectos de interés: la conveniencia de su empleo local, la administración lo más precozmente posible (sin que ello implique contraindicación en personas expuestas que se someten tardíamente al tratamiento) y la inoculación en un lugar diferente al de la primera dosis de vacuna (preferentemente varias horas más tarde). Si bien los riesgos de anafilaxia sérica se disminuyen en los sueros purificados, es indispensable realizar pruebas de sensibilidad al suero empleado antes de su administración total, que convendrá hacer de una sola vez.

2. Inmunización de perros.

La vacuna LEP ha demostrado su eficacia duradera y se recomienda su empleo para los programas de control, provisión hecha de que cumpla las condiciones establecidas y ya señaladas más arriba. Si bien puede presentar algunos riesgos en los animales de corta edad, su potencia es al parecer superior a la de la vacuna HEP que no tiene ese inconveniente.

Entre las vacunas inactivadas, la de Fuenzalida-Palacios ha demostrado ya su bondad en los programas de control de algunos países. Es aconsejable proseguir los estudios encaminados a determinar la duración de la inmunidad que ella confiere.

3. Inmunización de bovinos.

La vacuna HEP parece ser la que logra mejores resultados por el tiempo de protección que con ella se induce. Sin embargo, los aparentes fracasos que se han mencionado en un informe de FAO y en este Seminario, ponen en evidencia la necesidad de realizar estudios más completos sobre este aspecto, especialmente en aquellas áreas donde se presenten tales fallas.

4. Antes de decidir la aplicación simultánea de vacunas vivas contra la rabia y otros agentes biológicos, se considera prudente realizar estudios controlados para verificar la inocuidad y eficacia de esos procedimientos.

5. Los procedimientos, actualmente en estudio, de vacunación automática de los animales silvestres por medio de trampas especiales, merecen ser señalados como un método posible de control.

V. Discusión sobre programas de control de la rabia.

1. Magnitud e importancia del problema.

Las informaciones aportadas por las delegaciones de los países al Primer Seminario de Rabia para las Américas, demuestran que el problema es grave en la mayoría de los países, pero que la falta de datos de valor estadístico indica la necesidad de una coordinación entre las diversas agencias responsables por la lucha antirrábica, con el fin de contar con una información básica más completa. (Ej.: densidad y dinámica de la población canina, bovina y de animales silvestres susceptibles; incidencia de rabia humana y animal; exposición; vacunación, accidentes postvacunales; recursos disponibles y otros).

Solamente en posesión de datos reales es posible establecer en forma exacta las metas a cumplir.

2. Definición de responsabilidades.

Se considera que la coordinación de las actividades debe hacerse a nivel nacional. Se señala que la cooperación de la comunidad en la realización del programa general es de fundamental importancia debiendo ser estimulada. Para esto, debe llevarse a cabo un plan de educación sanitaria que permita lograr los objetivos señalados.

3. Vacunas a emplear.

Contándose con vacunas efectivas se insiste en la importancia del correcto mantenimiento, manejo y aplicación de las mismas. La metodología de la vacunación de perros debe hacerse de acuerdo con las condiciones locales, tratando de vacunar el mayor número de perros en el menor tiempo. Para lograr las metas establecidas, las acciones deben ser permanentes y continuas.

4. Se reconoce el papel importante que desempeña el perro callejero en el mantenimiento de la rabia en una comunidad. La reducción de esta población canina debe hacerse enérgicamente por los métodos más indicados y adecuados.

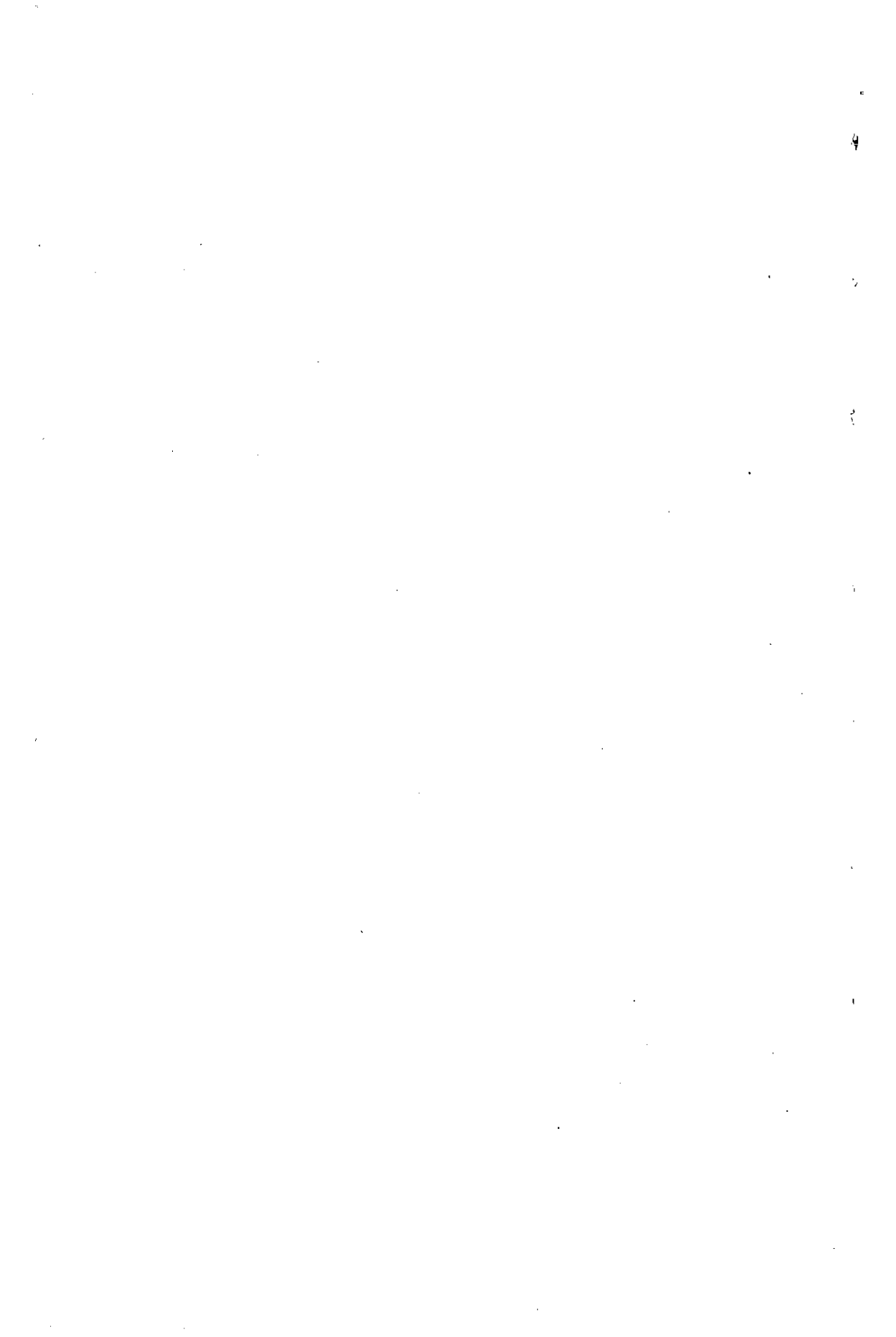
5. La efectividad de un programa continuo depende de un financiamiento adecuado a las necesidades del mismo y de la utilización de personal con dedicación exclusiva, contando para ello con el aporte gubernamental y los recursos de la comunidad.

El problema de la rabia en áreas fronterizas, sin límites geográficos naturales, implica una obligación extra por parte de las autoridades sanitarias de los países limítrofes.

6. Control de la rabia silvestre.

Hasta que no se conozca más sobre problemas de la rabia en animales silvestres, de la dinámica de estas poblaciones y se determinen métodos específicos de reducción de determinadas especies, las acciones de control de rabia en este campo estarán limitadas. Esto señala la necesidad de realizar más investigaciones, especialmente en lo que se refiere a vampiros. Por lo tanto, el establecimiento de una barrera entre la rabia silvestre y los animales domésticos, debe hacerse por medio de la vacunación de estos últimos.

ANEXOS



ANEXO I

PRIMER SEMINARIO INTERNACIONAL SOBRE RABIA PARA LAS AMERICAS

24-29 de septiembre de 1967

PROGRAMA

24 de septiembre (domingo)

Mañana:

10.30: *Sesión inaugural.*

- Director del Centro Panamericano de Zoonosis.
- Asesor Regional de Medicina Veterinaria -
PAHO/WHO.
- Secretario de Agricultura y Ganadería de la Nación.
- Secretario de Salud Pública de la Nación.

25 de septiembre (lunes)

Mañana:

8.30: Inscripción de los participantes y breve visita al Centro Panamericano de Zoonosis.

10.—: *Sesión preliminar.*

- Elección del Presidente, Vice-Presidente, Relator y Secretario del Seminario.

10.30: *Primera sesión.* Presidente del Seminario: Dr. A. M. Vilches.

- Presentación del tema:
“Metas Futuras en la Investigación de la Rabia”, Dr.
T. Wiktor.
- Discusión del tema.

12.30: Almuerzo.

Tarde: *Segunda sesión*. Presidente: Dr. P. Acha.

14.—: Presentación del tema:

“Situación de la Rabia en el Mundo”, Dr. M. Kaplan.

—Discusión del tema.

—Informe de los países.

18.30: Cocktail.

26 de septiembre (martes)

Mañana: *Tercera sesión*. Presidente: Dr. J. Sá Fleitas.

8.30: Presentación de los temas:

“Patogénesis de la Rabia”, Dr. H. Johnson.

“Patogénesis de la Rabia en Murciélagos”, Dr. G. Baer.

—Discusión del tema.

12.30: Almuerzo.

Tarde: *Cuarta sesión*. Presidente: Dr. Renato da Silva.

14.—: Presentación del tema:

“Epidemiología de la Rabia en Bovinos y en Murciélagos”, Dr. P. Acha.

—Discusión del tema.

—Informe de los países.

27 de septiembre (miércoles)

Mañana: *Quinta sesión*. Presidente: Dr. K. Sikes.

8.30: Presentación de los temas:

“Caracterización del Virus Rábico y Diagnóstico”, Dr. P. Atanasiu.

“Respuesta de Células *in vitro* a Infección Rábica”, Dr. M. Fernandes.

—Discusión de los temas.

12.30: Almuerzo.

Tarde: *Sexta sesión*. Presidente: Dr. E. Gimeno.

14.—: Presentación de los temas:

“Rabia en Animales Silvestres”, Dr. K. Sikes.

“Conceptos Nuevos sobre la Epidemiología y el Control de la Rabia”, Dr. J. Steele.

—Discusión de los temas.

—Informe de los países y discusión sobre problemas de control.

28 de septiembre (jueves)

Mañana: *Séptima sesión*. Presidente: Dr. M. Kaplan.

8.30: Presentación de los temas:

“Prevención de la Rabia (Vacunas)”, Dr. K. Habel.

“Vacuna de Cerebro de Ratón Lactante”, Dr. E. Fuenzalida.

—Discusión de los temas.

12.30: Almuerzo.

Tarde: *Octava sesión*. Presidente: Dr. M. Bohl.

14.—: Presentación del tema:

“Reactivación de la Infección Latente a Virus Rábico”,
Dr. O. Soave.

—Discusión del tema:

—Informe de los países.

29 de septiembre (viernes)

Mañana: *Novena sesión*. Presidente: Dr. P. Atanasiu.

8.30: Presentación de los temas:

“Vacunas de Cultivo de Tejido”, Dr. M. Abelseth.

“Purificación de Vacunas Antirrábicas”, Dr. O. Larghi.

—Discusión de los temas.

12.30: Almuerzo.

Tarde: *Sesión final*. Presidente del Seminario: Dr. A. M. Vilches.

14.—: Discusión sobre problemas de control.

15.—: Revisión general de los temas del Seminario.

16.— *Sesión de clausura*.

Coordinador: Dr. Donald F. Damude

Secretaría: Dr. James Cocozza

Dr. David Garrick

Dr. Richard Parker

Dr. George Baer

Coordinador local: Dr. Jorge Gorodner.

ANEXO II

NOMINA DE CONSULTORES

Dr. Melvin Abelseh (Consultor OPS/OMS)	Laboratories for Veterinary Science and Meat Hygiene, Department of Health, State of New York, Albany, N.Y. - U.S.A.
Dr. Pedro N. Acha	Asesor en Salud Pública Veterinaria Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C. - U.S.A.
Dr. Pascu Atanasiu (Consultor OPS/OMS)	Institut Pasteur París XV ^o - Francia
Dr. George Baer	Consultor en Rabia Organización Panamericana de la Salud Palo Alto - México
Dr. Philippe Cavalie	Epidemiólogo, Zona I Organización Panamericana de la Salud Kingston - Jamaica
Dr. James Cocozza	Consultor en Rabia Organización Panamericana de la Salud San Diego, California - U.S.A.
Dr. Donald F. Damude	Jefe de Servicios Técnicos Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS Ramos Mejía (Buenos Aires) - Argentina
Dr. Mario Fernandes	Jefe de Laboratorios Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS Rio de Janeiro - Brasil

- Dr. Eduardo Fuenzalida Especialista en Rabia
Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS
Ramos Mejía (Buenos Aires) - Argentina
- Dr. Mario Galdós Epidemiólogo, Zona VI
Organización Panamericana de la Salud
Buenos Aires - Argentina
- Dr. David Garrick Consultor en Salud Pública Veterinaria
Organización Panamericana de la Salud
Guatemala - Guatemala
- Dr. Karl Habel
(Consultor OPS/OMS) Department of Experimental Pathology
Scripps Clinic and Research Foundation
La Jolla, California - U.S.A.
- Dr. Harald N. Johnson
(Consultor OPS/OMS) Arthropod-borne Virus Studies
The Rockefeller Foundation
Berkeley, California - U.S.A.
- Dr. Martín M. Kaplan Chief, Veterinary Public Health Section
Division of Communicable Diseases
World Health Organization
Geneva - Suiza
- Dr. Oscar P. Larghi Virólogo, Centro Panamericano de Zoonosis,
OPS/OMS
Ramos Mejía (Buenos Aires) - Argentina
- Dr. Mario Miranda Epidemiólogo, Zona IV
Organización Panamericana de la Salud
Lima - Perú
- Dr. Richard Parker Consultor en Rabia, Oficina de Campo
Organización Panamericana de la Salud
El Paso, Texas - U.S.A.
- Dr. Keith Sikes
(Consultor OPS/OMS) Rabies Control Unit
Communicable Disease Center
Atlanta, Ga. - U.S.A.

Dr. Orland Soave	Centro Panamericano de Zoonosis Ramos Mejia (Buenos Aires) - Argentina
Dr. James H. Steele (Consultor OPS/OMS)	Chief, Veterinary Public Health Communicable Disease Center Atlanta, Ga. - U.S.A.
Dr. Alfonso Trejos	Jefe de Laboratorios Centro Panamericano de Zoonosis Ramos Mejia (Buenos Aires) - Argentina
Dr. Tadeusz Wiktor (Consultor OPS/OMS)	The Wistar Institute Philadelphia, Penn. - U.S.A.

ANEXO III

NOMINA DE PARTICIPANTES

ARGENTINA

Dr. Silvio Barbuto	Dirección de Enfermedades Transmisibles Secretaría de Salud Pública Buenos Aires
Dr. Victorio C.F. Cedro	Director, Instituto de Zoonosis Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Buenos Aires
Dra. Ana G. de Crescini	Jefa de Laboratorio Laboratorio Pasteur Municipalidad de Buenos Aires Buenos Aires
Dr. Adolfo Fernández Munilla	Jefe Plan Lucha Antirrábica Laboratorio Pasteur, Municipalidad de Buenos Aires Buenos Aires
Dr. Guillermo Forrest	Jefe Programa Rabia Paresiante Servicio de Luchas Sanitarias Buenos Aires
Dr. Emilio Gimeno	Director General de Sanidad Animal Secretaría de Agricultura y Ganadería Buenos Aires

- Dr. Gustavo González Blanco Programa de Rabia Paresiante
Servicio de Luchas Sanitarias
Salta
- Dra. Lola E. González Jefa de Laboratorio, Instituto de Virología
Ministerio de Salud Pública y A. Social
Córdoba
- Dr. Jorge O. Gorodner Jefe División Helmintología
Instituto Nacional de Microbiología
"Dr. Carlos G. Malbrán"
Buenos Aires
- Dr. Anibal Lippi Departamento de Laboratorio
Servicio de Luchas Sanitarias
Buenos Aires
- Dr. Raúl M. Mendy Comisión Nacional Coordinadora de Zoonosis
Secretaría de Agricultura y Ganadería
Buenos Aires
- Dr. Horacio Mónaco Director Técnico
Servicio de Luchas Sanitarias
Buenos Aires
- Dr. Benjamín L. Morán Profesor de Patología
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Buenos Aires
- Dr. Félix Morris Inspector Veterinario
Ministerio de Bienestar Social
Mendoza
- Dra. Clara B. de Pérez Arrieta Jefa Sección Virus
Instituto de Zoonosis, INTA
Buenos Aires

- Dr. M. José Sá-Fleitas Director, Laboratorio Pasteur
Municipalidad de Buenos Aires
Buenos Aires
- Dra. María Ida Sancho Jefa División Veterinaria
Departamento de Lucha Antirrábica
Avellaneda (Buenos Aires)
- Dr. Juan Carlos Santi Jefe División Rabia
Instituto Nacional de Microbiología
"Dr. Carlos G. Malbrán"
Buenos Aires
- Dr. Antonio M. Vilches Director, Instituto Nacional de Microbiología
"Dr. Carlos G. Malbrán"
Buenos Aires

BOLIVIA

- Dr. Hugo Araujo Jefe de la Sección Virología
Instituto Nacional de Biología Animal
La Paz
- Dr. Baldemar Melgar Instituto Nacional de Biología Animal
Santa Cruz
- Dr. José M. Payno Jefe Producción Vacuna Antirrábica
Instituto Nacional de Biología Animal
Santa Cruz

BRASIL

- Dr. Newton N. da Silva Director, Instituto de Pesquisas Biológicas
Porto Alegre, R.G. do Sul
- Dr. Renato A. da Silva Instituto de Biología Animal
Sección de Zoonosis por Virus
Río de Janeiro

- Dr. Joaquim Carvalho Loures Instituto Oswaldo Cruz
Río de Janeiro
- Dr. Helio Markus Jefe Laboratorio Rabia
Instituto de Pesquisas Biológicas
Porto Alegre, R.G. do Sul
- CHILE
- Dr. Miguel M. Alvarez Asesor Nacional de Zoonosis
Dirección General de Salud
Santiago
- Dr. Fernando Fábrega Instituto Bacteriológico
Santiago
- Dr. Enrique Mora Profesor de Salud Pública
Facultad de Ciencias Pecuarias y
Medicina Veterinaria
Universidad de Chile
Santiago
- COLOMBIA
- Dr. Víctor Calderón M. Jefe División Epidemiología
Ministerio de Salud Pública
Bogotá
- Dr. Alfredo Lleras P. Jefe de Virología
Instituto Nacional de la Salud
Bogotá
- COSTA RICA
- Dr. Alfio Piva Jefe Departamento Investigaciones
Médico-Veterinarias
Ministerio de Agricultura
San José

Dr. Ricardo Vargas Jefe Laboratorio Virus
Ministerio de Salubridad
San José

CUBA

Dr. Aramis Fernández L. Director de Epizootiología
Instituto Nacional de Veterinaria
La Habana

Dr. Ramón Martínez R. Director de Epidemiología
Ministerio de Salud Pública
La Habana

ECUADOR

Dr. Felipe Aroca Jefe División Nacional de Epidemiología
Dirección General de Salud
Guayaquil

Dr. Carlos Maldonado Jefe Zonal de Laboratorio
Instituto de Higiene
Ministerio de Salud Pública
Quito

GUATEMALA

Dr. Luis M. Díaz Jefe Departamento de Veterinaria
Dirección General de Sanidad
Guatemala

MEXICO

Dr. Jorge Cárdenas L. Jefe Campaña Nacional contra Zoonosis
Ministerio de Salubridad
México

Dr. Antonio Morilla Asistente Sección Rabia
Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias
Palo Alto

Dr. Jorge Vilchis V. Director Campañas Sanitarias y Epidemiología
Ministerio de Salubridad
México

NICARAGUA

Dr. Edmundo Aguilar Médico Veterinario
Ministerio de Salubridad Pública
Managua

PARAGUAY

Dra. Domiciana Gamarra Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Asunción
Asunción

Dr. Angel M. González Jefe Sección Rabia
Ministerio de Salud Pública y B. Social
Asunción

Dra. Elsa Mujica Sección Antirrábica
Ministerio de Salud Pública y B. Social
Asunción

PERU

Dra. Ana A. Alencastre Laboratorio de Diagnóstico Rabia
Ministerio de Salud Pública y A. Social
Lima

Dr. Miguel Bohl Subdirector, Instituto Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y A. Social
Lima

Dr. Jorge Escalante Asesor-Supervisor en Salud Pública
Ministerio de Salud Pública y A. Social
Lima

Dr. Alberto Focacci Asistente Unidad Rabia. Instituto
Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y A. Social
Lima

REPUBLICA DOMINICANA

Dr. Francisco Kasse Acta Encargado Sección Control, Alimentos y
Zoonosis
Secretaría de Salud Pública y A. Social
Santo Domingo

TRINIDAD Y TOBAGO

Dr. Robert Loregnard Zoólogo, Ministerio de Agricultura
Saint Clair, Trinidad

URUGUAY

Dr. Ernesto Giambruno Instituto de Higiene
Facultad de Medicina
Montevideo

Dr. Leonel Pérez Moreira Coordinador General Lucha Antirrábica
Ministerio de Salud Pública
Montevideo

Dr. Bernardo Porzecanski Director, Instituto Antirrábico
Ministerio de Salud Pública
Montevideo

VENEZUELA

Dr. Guillermo Dumith Jefe Sección Microbiología
Centro de Investigaciones Veterinarias
Ministerio de Agricultura y Cría
Maracay

Dr. Héctor López A. Epidemiólogo, Ministerio de Sanidad
Caracas

Dr. Horacio Rosales Gil Jefe Sección Zoonosis
División de Veterinaria
Ministerio de Salud Pública
Caracas

OBSERVADORES

ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA
AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION (FAO)

- Dr. H. S. Caldwell Veterinario Regional de la FAO
Oficina Regional para América Latina
México 6, D.F. - México
- Dr. Arthur M. Greenhall Zoólogo FAO-USA
U.S. National Museum
Washington, D.C. - U.S.A.
- Dr. Frank J. Peritz Oficial Regional de Zoonosis y Medicina
Veterinaria Preventiva
Oficina Regional de FAO para América Latina
Santiago - Chile

ARGENTINA

- Dr. Mario P. Cabella Secretaría de Salud Pública
Buenos Aires
- Dr. Bruno Caponi Servicio Clínica Médica
Policlínico General San Martín
Santos Lugares (Buenos Aires)
- Dr. Sion Enser Jefe de Orientación y Diagnóstico
Laboratorio Pasteur
Buenos Aires
- Dr. Robert H. Ewart Agregado Veterinario
Embajada Británica
Buenos Aires

- Dr. Enrique Gury Dohmen Jefe Sección Veterinaria
Laboratorio Pasteur
Buenos Aires
- Dr. Carlos Iramain Hospital Fiorito
Buenos Aires
- Dra. Julia F. A. de Lema Jefe de Trabajos Prácticos
Cátedra Veterinaria en Salud Pública
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Buenos Aires
- Dr. Mario A. Morabes Jefe Dispensario Antirrábico
Hospital San Miguel
General Sarmiento (Buenos Aires)
- Dra. Gertrudis Nagel Instructora Sección Virología
Facultad de Ciencias Médicas
Rosario
- Dr. Jorge H. Orlando Jefe Sección Estadística
Laboratorio Pasteur
Buenos Aires
- Dr. Osvaldo Peso Jefe de Producción
Laboratorios Asociados IFFA--Estrella
Buenos Aires
- Dr. A. Retamoso Yopez Encargado de Laboratorio
Servicio de Luchas Sanitarias
Salta
- Dr. Willi Rucks Secretaría de Agricultura y Ganadería
Buenos Aires
- Dr. Juan C. Speroni Director Técnico
Laboratorios Asociados IFFA-Estrella
Buenos Aires

Dra. Teresa A. Vallero Sección Pediatría, Hospital Alvarez
Buenos Aires

BRASIL

Dr. Geraldo Carneiro Jefe de Laboratorio de Biología Animal
Secretaría de Agricultura
Niteroi (E. de Río).

Dr. Antonio M. de Godoy Profesor de Microbiología
Facultad de Veterinaria
Universidad de Minas Gerais
Belo Horizonte (M.G.)

Dr. Paulo Gomes de Góuvea Coordinador de Zoonosis
Ministerio de Salud
Niteroi (E. de Río)

CANADA

Dr. V. C. Rowan Walker Research Member
Veterinary Section
Connaught Laboratories
Toronto 4

FRANCLIA

Dr. G. H. Petermann Director de Investigaciones
Institut Français de Virologie
Lyon

ANEXO IV

RECOMENDACIONES DEL COMITE ASESOR SOBRE PRACTICAS DE INMUNIZACION DEL SERVICIO DE SALUD PUBLICA

En la reunión del 17 de febrero de 1967 del Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización del Servicio de Salud Pública se formularon las siguientes recomendaciones para la prevención de la rabia en los Estados Unidos. (Reimpreso del MMWR, Vol. 16, N° 19, para la semana que finalizó el 13 de mayo de 1967.)

Introducción.

Aunque los casos de rabia humana son raros en los Estados Unidos, miles de personas por año reciben profilaxis antirrábica. El modo de prevención descrito a continuación está basado en una interpretación contemporánea tanto del riesgo de infección como de la eficacia del tratamiento, e incorpora los conceptos básicos expresados por el Comité de Expertos en Rabia de la OMS¹.

Uno de los problemas que inquietan a los médicos es si se debe o no inmunizar a las personas mordidas o arañadas por animales sospechosos de tener rabia. Todos los métodos disponibles de tratamiento sistemático se ven complicados por numerosos casos de reacciones adversas, algunas de las cuales dan como resultado la muerte o incapacidad permanente. Además, la decisión debe tomarse inmediatamente, pues las probabilidades de que las medidas profilácticas contribuyan a la prevención de la rabia disminuyen rápidamente a medida que aumenta el intervalo entre la exposición y el tratamiento.

Las evidencias de la eficacia de la inmunización activa y pasiva de post-exposición derivan principalmente de estudios realizados con animales de experimentación. El valor del tratamiento ha sido cuestionado debido a que, en algunas ocasiones, personas que habían recibido profilaxis antirrábica desarrollaron la enfermedad. Sin embargo, los resultados obtenidos en experiencias tanto de laboratorio como de campo prueban que la profilaxis posterior a la exposición puede ser sumamente efectiva si se la aplica en forma adecuada.

Situación de la rabia en los Estados Unidos

La incidencia de rabia humana ha declinado de un promedio de 22 casos anuales durante el período 1946-1950, a 1 caso por año en el período 1963-1966. También han disminuido los casos de rabia en los animales domésticos. En 1946, había más de 8.000 casos de rabia en perros; en 1966 hubo 412. De esta forma ha disminuído también el peligro de los animales domésticos como fuente de exposición para los seres humanos, aunque las mordeduras de perros y gatos continúan siendo responsables de una abrumadora mayoría de los tratamientos antirrábicos.

En contraste, la enfermedad en la fauna silvestre —especialmente zorrinos, zorros y murciélagos— ha venido aumentando en los últimos años, constituyendo más del 70% del total de casos de rabia animal notificados en 1966. Durante ese año, sólo cuatro Estados permanecieron libres de rabia silvestre. Los animales salvajes constituyen, hoy día, la fuente más importante de infección tanto para los animales domésticos como para el hombre en los Estados Unidos.

Situación del tratamiento antirrábico en los Estados Unidos

Más de 30.000 personas reciben anualmente tratamiento antirrábico de post-exposición. Sin embargo, no hay información concerniente al número de personas realmente expuestas a animales rábidos.

La vacuna de tejido nervioso tipo Semple (NTV) fue usada casi en forma exclusiva en los Estados Unidos hasta 1957, cuando obtuvo su licencia la vacuna de embrión de pato (DEV). Más del 75% de las personas tratadas en los Estados Unidos en 1965 recibieron vacuna DEV.

Ha habido una variación notable en la proporción de reacciones adversas asociadas con la NTV. En los Estados Unidos se acepta generalmente que 1 individuo entre 4.000-8.000 personas tratadas con NTV desarrolla complicaciones neurológicas. Se ha atribuído a la NTV una proporción de 1 muerte por cada 35.000 personas tratadas.

La proporción de complicaciones neurológicas asociadas con el uso de DEV ha sido de 1 en 25.000 personas tratadas. Entre 172.000 individuos que recibieron DEV desde su aparición ha ocurrido 1 muerte probablemente atribuible a la vacuna.

Fundamentación del tratamiento

Cada caso de exposición a posible infección rábica debe ser evaluado individualmente. En los Estados Unidos, antes de iniciar un tratamiento antirrábico deben considerarse los siguientes factores:

Especie del animal mordedor: Si se trata de animales carnívoros (especialmente zorrinos, zorros, coyotes, mapaches, perros y gatos) y de murciélagos hay mayores posibilidades de que estén infectados. Las mordeduras de roedores raramente, o nunca, requieren profilaxis antirrábica específica.

Circunstancias en que ocurrió el hecho: Un ataque *no provocado* significa, con mayor probabilidad, que el animal está rabioso. (Las mordeduras sufridas al tratar de alimentar o manejar animales aparentemente sanos deben considerarse por lo general como *provocadas*).

Extensión y lugar de las heridas: Las probabilidades de que una mordedura provoque rabia varían de acuerdo a su gravedad y ubicación. Como orientación, se aceptan dos categorías de exposición.

Grave: Mordeduras múltiples o profundas o situadas en la cabeza, cara, cuello, manos o dedos.

Leve: Arañazos, laceraciones o simples mordeduras en partes del cuerpo que no sean la cabeza, cara, cuello, manos o dedos. Heridas abiertas, tales como abrasiones, que se sospecha han estado en contacto con la saliva.

Estado de inmunización del animal mordedor: Un animal adulto, inmunizado adecuadamente por una o más dosis de vacuna tiene sólo probabilidades mínimas de desarrollar rabia y transmitir el virus.

Presencia de rabia en la región: Si hay buenos registros de campo y de laboratorio que indican que no existe rabia en los animales domésticos de una determinada región, se justifica que los oficiales locales de salud tomen esos datos en consideración al emitir sus recomendaciones con respecto al tratamiento antirrábico en el caso de mordeduras por esas especies.

Manejo de los animales mordedores

Un perro o un gato que muerde a alguien debe ser capturado, confinado y puesto en observación al cuidado de un veterinario por lo menos durante 5 días, preferiblemente entre 7 y 10 días. Cualquiera

signo de enfermedad en el animal debe ser notificado inmediatamente al departamento local de salud. Si el animal muere, la cabeza debe ser enviada, refrigerada, a un laboratorio calificado para ser examinada. Debido a que los síntomas clínicos no pueden ser interpretados en forma segura, los animales salvajes deben ser matados inmediatamente y su cerebro debe ser examinado.

Tratamiento local de las heridas

El tratamiento *inmediato* y cuidadoso de todas las mordeduras y arañazos es quizás el medio más eficaz de prevenir la rabia. Se ha probado en forma experimental que la incidencia de rabia en los animales pueden ser reducida en forma notable por el solo tratamiento local.

Primeros auxilios a ser prestados inmediatamente: Lavado abundante con agua sola, agua jabonosa o agua con detergente.

Tratamiento efectuado por el médico o bajo su dirección: 1) Lavado completo de la herida con solución de jabón. Puede usarse también un compuesto cuaternario de amonio. Todos los restos de jabón deben ser eliminados antes de aplicar el compuesto cuaternario de amonio, pues el jabón neutraliza su actividad.

2) Si se indica administración de suero antirrábico, debe hacerse una aplicación tópica alrededor de la herida con una parte de la dosis total. Como en todos los casos en que se usa suero de caballo, deben realizarse antes pruebas de hipersensibilidad².

3) Aplicación, cuando esté indicado, de profilaxis antitetánica y de medidas para prevenir infecciones bacterianas².

4) *No* es aconsejable la sutura de las heridas.

PROFILAXIS DE POST-EXPOSICION

Inmunización activa

Preparación de vacunas antirrábicas

Vacuna de embrión de pato (DEV). Preparada a partir de huevos de pato embrionados, infectados con un virus fijo e inactivada con beta propiolactona.

Vacuna de tejido nervioso (NTV). Preparada con cerebros de conejos infectados con un virus fijo e inactivada por fenol a 37°C (tipo Semple) o por irradiación ultravioleta.

Antigenicidad de las vacunas

La antigenicidad de la NTV se ha mostrado a menudo más alta que la de DEV en animales de laboratorio. Sin embargo, todos los lotes de ambas vacunas deben pasar los requisitos mínimos de potencia establecidos por la División de Estándars Biológicos, Institutos Nacionales de Salud. Hay evidencias de que la respuesta de anticuerpos en el suero de las personas se detecta más rápido en las vacunaciones con DEV, pero el nivel de respuestas es frecuentemente más alto con NTV.

Eficacia de la vacunación de los seres humanos

En los Estados Unidos, la eficacia comparativa de las vacunas puede ser juzgada solamente por la frecuencia de las fallas en prevenir la enfermedad. Durante los años 1957 a 1967, período en que ambas vacunas estuvieron disponibles, hubo 6 muertes entre 117.700 personas tratadas con NTV y 7 muertes en 172.000 vacunadas con DEV (1:24.500).

Reacciones

Eritema, prurito, dolor y sensibilidad en el sitio de inoculación son reacciones comunes tanto a la DEV como a la NTV. Con cualquiera de ellas pueden ocurrir ocasionalmente durante el tratamiento reacciones sistémicas incluyendo algo de fiebre o, raramente, posturación nerviosa; esto puede observarse generalmente después de 5-8 dosis. En casos raros, han ocurrido serias reacciones después de la administración de la primer dosis de DEV o NTV, particularmente en personas previamente sensibilizadas con vacunas conteniendo tejido cerebral de ave o de conejo.

Como se dijo antes, raramente ocurren complicaciones neurológicas con la DEV. Se observan con más frecuencia en tratamientos con NTV, especialmente después de repetidas series de aplicaciones con esta vacuna.

Elección de la vacuna

Los porcentajes de fallas de las dos vacunas no son significativamente diferentes; de manera que la DEV es preferida debido a la menor frecuencia de complicaciones del sistema nervioso central.

Esquema para el uso de la vacuna

Serie primaria: Por lo menos 14 inyecciones diarias de vacuna en la dosis indicada por el fabricante. Deben ser aplicadas subcutáneamente en el abdomen, parte inferior de la espalda o parte lateral de los muslos; se recomienda rotación de los lugares.

En exposiciones severas se recomienda la aplicación de 21 dosis. Pueden ser dadas como 21 aplicaciones diarias o como 14 dosis durante los primeros 7 días (dos inyecciones separadas o una dosis doble), las dosis restantes se inyectan en los 7 días siguientes.

Inmunización de refuerzo: Dos dosis de refuerzo, una 10 días y la otra por lo menos 20 días después de la terminación del tratamiento. Las dos dosis de refuerzo son particularmente importantes si se usó suero antirrábico al principio del tratamiento.

Precauciones

Cuando debe aplicarse vacuna antirrábica a una persona con historia de hipersensibilidad, especialmente a tejidos aviares o de conejo, deben usarse drogas antihistamínicas. La epinefrina es útil en las reacciones de tipo anafilactoide. Si manifestaciones alérgicas graves impiden la continuación del tratamiento con una vacuna, puede usarse la otra.

Cuando se desarrollan reacciones meníngeas o neuroparalíticas, el tratamiento debe ser interrumpido. La corticotropina y los corticosteroides son útiles para tales complicaciones.

Inmunización pasiva

El suero hiperinmune ha demostrado ser eficaz para la prevención de la rabia. Su uso combinado con vacuna es considerado como la mejor profilaxis de post-exposición. Sin embargo, el único suero antirrábico disponible actualmente en los Estados Unidos es el preparado en caballos. Su uso debe ser limitado debido a que el suero equino induce reacciones alérgicas en por lo menos 20% de los casos.

El uso del suero hiperinmune se recomienda para la mayoría de las exposiciones consideradas graves, y para *todos* los casos de mordedura de animales rabiosos, carnívoros silvestres y murciélagos. En los casos indicados el suero antirrábico debe ser aplicado sin tener en cuenta el intervalo entre la exposición y el tratamiento.

La dosis recomendada es 1000 unidades (un tubo) por 40 libras de peso. Una parte de la dosis se aplica alrededor de la herida y el resto intramuscularmente. Como se indicó previamente, deben realizarse las pruebas alérgicas y consultarse la historia del paciente.

PROFILAXIS PREVIA A LA EXPOSICION

La frecuencia relativamente baja de complicaciones con la DEV la ha hecho más adecuada para la inmunización de pre-exposición de personas en riesgo de infección: veterinarios, personas que manejan animales, algunos laboratoristas, y personas que trabajan en zonas donde la rabia es una amenaza constante. También pueden recibir profilaxis previa a la exposición otras personas cuyas ocupaciones los ponen en frecuente contacto con perros, gatos, zorros, zorrinos o murciélagos.

Dos inyecciones de 1.0 ml de DEV, aplicadas subcutáneamente con un mes de intervalo en la zona deltoidea serán seguidas por una tercera dosis 6-7 meses después de la segunda. Esta serie de tres inyecciones produce anticuerpos neutralizantes en el 80-90% de las personas vacunadas un mes después de la tercera dosis.

Si se desea una inmunización más rápida, pueden aplicarse 3 inyecciones de 1,0 ml de DEV con una semana de intervalo, seguidas por una cuarta dosis 3 meses más tarde. Este esquema produce una respuesta de anticuerpos en el 80% de los vacunados.

Todas las personas que reciben tratamiento previo a la exposición deben ser sometidas a la prueba de seroneutralización 3-4 semanas después de la última inyección. Las pruebas pueden ser encargadas a los departamentos estatales de salud o por su intermedio. Si no hay anticuerpos detectables, las dosis de refuerzo se repetirán hasta conseguir una respuesta. Cuando la persona vacunada haya de seguir expuesta al riesgo de infección deberá revacunarse con nuevas dosis de refuerzo de 1,0 ml cada 2 ó 3 años.

En los casos de exposición de personas inmunizadas en las que se haya comprobado la formación de anticuerpos se sugiere que, en los casos de exposición leve, se administre una dosis de refuerzo, y para una exposición severa una serie de 5 dosis diarias seguida de una dosis de refuerzo a los 20 días. Si no se sabe si la persona expuesta tenía anticuerpos debe aplicarse el tratamiento completo de post-exposición.

REFERENCIAS

¹ Technical Report Series N° 321, WHO Expert Committee on Rabies, Fifth Report, 1966.

² Recommendation of the Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practices: Diphtheria, Tetanus and Pertussis vaccines — Tetanus Prophylaxis in Wound Management, Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol. 15, N° 48, week ending December 3, 1966.

GUIA PARA LA PROFILAXIS ANTIRRABICA DE POST-EXPOSICION

Las siguientes recomendaciones son solamente una guía. Pueden ser modificadas de acuerdo al conocimiento de la especie del animal mordedor y las circunstancias que rodean al incidente.

ANIMAL MORDEDOR		TRATAMIENTO		
Especie	Estado en el momento del ataque	Sin lesión	Exposición	
			Leve *	Severa *
Perro o gato	sano	ninguno	ninguno ¹	S ¹
	síntomas de rabia escapado o desconocido o rabido	ninguno	V ²	S+V ²
Zorrino, zorro mapache, coyote murciélago	ninguno	ninguno	V	S+V
	considerado como rabido por ataque no provocado	ninguno	S+V	S+V
Otro	considerar cada caso individualmente. Ver Fundamentación del Tratamiento.			

Código: * Ver las definiciones en el texto.

V Vacuna antirrábica.

S Suero antirrábico.

¹ Comenzar la vacunación a los primeros signos de rabia manifestados por el perro o gato mordedor durante el periodo de observación (preferiblemente 7-10 días).

² Discontinuar la aplicación de la vacuna si el perro o el gato mordedor continúan sanos 5 días después de la exposición, o si se ha demostrado un resultado negativo de laboratorio en el animal muerto en el momento de atacar. Si el animal en observación muere después de los 5 días, y el cerebro resulta positivo, reanudar el tratamiento.

ANEXO V

Quinto informe del Comité de Expertos de la OMS en Rabia
(Organización Mundial de la Salud: Serie de Informes técnicos, 1966, N° 321)

Anexo 1

INSTRUCCIONES PARA EL TRATAMIENTO DE MORDEDURAS Y CONTACTOS *

Las recomendaciones que se reproducen en las páginas siguientes son simples orientaciones; el Comité se hace cargo de que la modificación de los métodos enunciados es admisible en determinadas condiciones, por ejemplo, en el tratamiento de niños de corta edad o en los casos en que no se conocen con certeza las circunstancias de la exposición, sobre todo si ésta se produce en zonas de rabia enzoótica aún cuando el animal parezca sano en el momento de la mordedura. En esos casos está indicado el tratamiento inmediato con arreglo a una pauta modificada, por ejemplo, un primer tratamiento local de la herida por los métodos que se describen más adelante, seguido de la administración de una dosis única de suero o de tres dosis de vacuna en días consecutivos; si el animal sigue sano a los diez días de la mordedura no será necesario continuar la vacunación. También estaría indicada una modificación del tratamiento que se recomienda a continuación en las zonas exentas de rabia, donde las mordeduras de animales sean frecuentes. En las zonas de rabia endémica, donde por experiencia directa confirmada en los análisis de laboratorio se sepa que no existe la infección en la especie del animal causante de la mordedura, las autoridades sanitarias podrán abstenerse, así mismo, de recomendar tratamientos antirrábicos especiales.

* Se recomienda encarecidamente que no se hagan reproducciones parciales de estas instrucciones.

A. TRATAMIENTO LOCAL DE LAS HERIDAS EN LOS CASOS DE EXPOSICION A LA RABIA

1. Medidas recomendadas en todos los casos.

a) *Primeros auxilios*

Lavado inmediato normal y a chorro con agua jabonosa, con un detergente o con agua sola (método recomendado en todas las mordeduras, incluso en las que no haya posibilidad de contacto con virus rábico).

b) *Tratamiento efectuado por el médico o bajo su dirección*

i) Limpieza adecuada de la herida.

ii) Lavado completo con una solución de jabón al 20 % y aplicación de un compuesto cuaternario de amonio u otra sustancia de probada acción letal sobre el virus de la rabia.¹

iii) Aplicación tópica de suero antirrábico o de sus globulinas en forma líquida o en polvo (facultativa).

iv) Aplicación cuando esté indicado de medidas antitetánicas y de antibióticos o medicamentos contra infecciones distintas de la rabia.

v) No es aconsejable la sutura de la herida.

2. Tratamiento local complementario, para casos de exposición grave únicamente.

a) Aplicación tópica de suero antirrábico o de sus globulinas en forma líquida o en polvo.

b) Infiltración de suero antirrábico alrededor de la herida.

¹ En caso de que se haya empleado jabón para limpiar la herida se eliminarán todas las partículas que queden antes de aplicar los compuestos cuaternarios de amonio pues el jabón neutraliza su actividad.

Se ha demostrado la eficacia del cloruro de benzalconio al 1 % para el tratamiento local de las heridas infectadas con virus rábico en el cobayo. Conviene notar que los compuestos cuaternarios de amonio al 1 % pueden resultar nocivos para los tejidos.

Ha podido observarse que los siguientes productos (ensayados por distintos sistemas de valoración en el ratón) ejercen *in vivo* una acción letal específica sobre el virus de la rabia:

Compuestos cuaternarios de amonio

0,1 % (1 : 1000) de cloruro de benzalconio = mezcla de cloruros de alcoholbencildimetilamonio.

0,1 % (1 : 1000) de bromuro de cetrimonio = bromuro de hexadeciltrimetilamonio.

1,0 % (1 : 100) de Hyamine 2389 = mezcla que contiene un 40 % de cloruro de metildodecibenciltrimetilamonio y un 10 % de metildodecixilen bis (cloruro de trimetilamonio).

1,0 % (1 : 100) de cloruro de metilbencetonio = cloruro de bencildimetil {2-{2-[*p*-(1,1,3,3,-tetrametilbutil)toliloxi]etoxi}etil}amonio.

1,0 % (1 : 100) SKF 11831 = bromuro de *p*-fenilfenacilhexametilentetramonio.

Otras sustancias

43-70 % de etanol, tintura de tiomersal, tintura de yodo, soluciones acuosas de yodo de 0,01 % como máximo (1 : 10 000), y soluciones jabonosas del 1 al 2 %.

B. TRATAMIENTO GENERAL ESPECIFICO

Naturaleza del contacto	Estado del animal sin tener en cuenta si está vacunado o no		Tratamiento recomendado
	En el momento del episodio sospechoso	Durante el período de observación de 10 días	
I. Contacto indirecto sin lesión	Rabioso	—	Ninguno
	Rabioso	Signos clínicos de rabia o rabia comprobada en el laboratorio	Ninguno
	a) sano		
II. Lamedura:	b) presuntos síntomas de rabia	Sano	Iniciése la vacunación 1 inmediatamente; interrúmpase el tratamiento si el animal sigue normal al quinto día de la exposición
III. Mordedura:	c) rabioso, huido, muerto o desconocido	—	Iniciése la vacunación 1 inmediatamente
	a) sano	Signos clínicos de rabia o rabia comprobada en el laboratorio	Iniciése la vacunación 1, 2 tan pronto como el animal presente los primeros síntomas de rabia
	b) presuntos síntomas de rabia		
	c) rabioso, huido, muerto o desconocido	Sano	Iniciése la vacunación 1 inmediatamente; interrúmpase el tratamiento si el animal sigue normal al quinto día de la exposición
	d) animal salvaje (lobo, chacal, zorro, murciélago, etc.)	—	Iniciése la vacunación 1, 2 inmediatamente
	a) sano	—	Adminístrese suero 2 inmediatamente e iniciése después la vacunación 1
	b) presuntos síntomas de rabia	Signos clínicos de rabia o rabia comprobada en el laboratorio	Adminístrese suero 2 inmediatamente; iniciése la vacunación 1 tan pronto como aparezcan los primeros síntomas de rabia en el animal
	c) rabioso, huido, muerto o desconocido	Sano	Adminístrese suero 2 inmediatamente; iniciése luego la vacunación que se podrá interrumpir si el animal sigue normal a los cinco días de la exposición
	d) animal salvaje (lobo, chacal, zorro, perro vagabundo, murciélago, etc.)	—	Adminístrese suero 2 inmediatamente e iniciése después la vacunación 1
	2) grave (mordeduras múltiples o situadas en la cara, la cabeza, los dedos o el cuello)	—	Adminístrese suero 2 inmediatamente; iniciése la vacunación 1 tan pronto como aparezcan los primeros síntomas de rabia en el animal

REFERENCIAS

¹ El volumen de vacuna por dosis y el número total de dosis que se recomiendan para cada tipo de casos varían según las condiciones, pero en general se administra como mínimo el equivalente de 2 ml de emulsión tisular al 5 % en inyecciones subcutáneas 14 días seguidos. En muchos institutos se inyectan de 20 a 30 dosis en los casos de exposición grave. Para suscitar y mantener una concentración elevada de anticuerpos neutralizantes deben administrarse en todos los casos dosis de refuerzo a los 10 y a los 20 ó más días de la última dosis diaria. La administración de dosis de refuerzo tiene particular importancia cuando se ha utilizado suero antirrábico, pues sirve para evitar el efecto de interferencia.

² En todos los casos de exposición grave o de mordedura de un animal salvaje sin provocación se administrarán además de la vacuna suero antirrábico o globulinas de suero antirrábico. A juicio del Comité ese tratamiento específico es el más eficaz de todos los conocidos para la profilaxis de la rabia en el hombre después de una exposición. La experiencia enseña que la vacuna sola es suficiente en los casos de exposición leve, pero sin duda ninguna, la asociación suero-vacuna da mayor protección; ello no obstante, el tratamiento mixto cuesta más caro y acarrea un riesgo mayor de reacciones secundarias, por lo que su empleo en los casos leves es facultativo. Como en el caso de la vacunación sola, el tratamiento de suero y vacuna debe iniciarse lo antes posible después de la exposición, pero cualquiera que sea el tiempo transcurrido desde ésta, se administrará suero. La administración del suero se hará en una sola dosis (a razón de 40 U1 por kg de peso), al mismo tiempo que la primera dosis de vacuna cuando se emplee esta última; antes de inyectar el suero se investigará la sensibilidad del sujeto.

ANEXO VI

Centro Panamericano de Zoonosis

Nota Técnica N° 7

Julio de 1967

METODO DE PREPARACION DE LA VACUNA ANTIRRABICA EN CEREBRO DE RATON LACTANTE

Introducción

La vacuna de cerebro de ratón lactante (CRL) fue desarrollada en el año 1954 en el Instituto Bacteriológico de Chile¹. Las primeras aplicaciones fueron hechas en perros y a partir del año 1960 se inició su uso en el hombre en forma experimental². Entre 1960 y 1962, se realizaron 2400 tratamientos controlados y a partir de esa fecha se utiliza en Chile como única vacuna para uso humano y canino³. Actualmente diversos países están preparando y utilizando esta vacuna en la profilaxis de la rabia en el hombre. Sobre 93.000 tratamientos administrados hasta 1966 en Chile, Perú, Argentina, Uruguay y Brasil, no se han presentado accidentes post-vacunales⁴ y se han reducido las fallas en el tratamiento que se observan con otras vacunas.

Animales utilizados

Deben pertenecer a una cepa de ratones albinos, sensibles al virus de la rabia y además, tener características de prolificidad que permitan obtener un promedio de 8 o más crías por cada madre.

Cuando las crías tienen 3 a 5 días de edad, se separan con sus respectivas madres en cajas individuales. En esta forma permanecerán también después de la inoculación, cuidando que la madre tenga el agua y el alimento necesarios.

Cepas de virus rábico fijo que se utilizan

En la obtención del antígeno componente de esta vacuna, se han venido usando tres cepas de virus rábico fijo: dos cepas chilenas autóctonas de virus fijo (cepas 51 y 91) y la cepa CVS.

Las cepas chilenas han sido mantenidas, desde su aislamiento, mediante pasajes por vía intracerebral en ratones.

Preparación de la semilla

Con el objeto de mantener las características de las cepas de virus utilizadas para preparar la vacuna, se conserva un "stock de semilla" que está constituido por suspensiones al 20% de cerebros de unos 10 a 20 ratones previamente inoculados con cada una de las cepas; estas suspensiones se liofilizan en porciones de 0,5 cc. en ampollas que se guardan a -20°C . hasta por períodos de 5 años.

Las tres cepas para semilla se mantienen en el Centro Panamericano de Zoonosis, a donde pueden solicitarse, a través de agencias oficiales.

Preparación de la "suspensión stock de trabajo" y sus controles

Con los cerebros de los ratones infectados con la semilla de cada una de estas cepas, se prepara la respectiva suspensión al 20%, peso a volumen, en suero equino al 2% en agua bidestilada que además contiene 200 unidades de penicilina y 200 microgramos de estreptomycinina por ml. Esta suspensión se destina a la inoculación de los ratones lactantes, cuyos cerebros van a servir para la producción de vacuna CRL. Estas suspensiones se mantienen en ampollas entre -30 y -70°C .

Control de esterilidad: La esterilidad bacteriana de la suspensión "stock de trabajo" debe probarse mediante la siembra de 1 ml de la misma en cada uno de tres tubos con 8 ml de caldo-tioglicolato de sodio, que se incuban a 36°C . durante 7 días.

Control de identidad: Con el fin de determinar si la "suspensión stock de trabajo" está contaminada con virus neurotrópicos, ajenos al virus rábico, se debe preparar una dilución 10^{-3} de esta suspensión, de la cual se toman 0,5 ml que se incuban durante 90 minutos a 37°C . con 0,5 ml de suero antirrábico hiperinmune, sin diluir. Esta mezcla se inocula por vía intracerebral en dosis de 0,01 ml en 8 ratones lactantes y 0,03 ml en 8 ratones adultos. Ninguno de los animales debe enfermar durante los siguientes 14 días.

Inoculación de los ratones y control de virulencia de la dilución usada

Los ratones lactantes *no mayores de 5 días de edad* son inoculados intracerebralmente con 0,01 ml de una dilución de la "suspensión stock de trabajo" que contenga aproximadamente 100 DL_{50} . Para la

dilución debe usarse la misma solución de suero equino con antibióticos mencionada anteriormente.

Una vez inoculados los ratones lactantes, la misma dilución empleada debe inyectarse, por vía intracerebral, en dosis de 0,03 ml a ratones de 11 a 14 g. con el objeto de comprobar la actividad del virus rábico contenido en la dilución empleada. Todos los ratones de 11 a 14 g. deben presentar síntomas dentro de los 14 días de observación. Si durante ese período, de uno a tres ratones permanecen sanos, debe renovarse la "suspensión stock de trabajo", pero la cosecha puede utilizarse. Si no enferma ninguno, la cosecha debe descartarse.

Cosecha de los cerebros

Transcurridas aproximadamente 96 horas desde la inoculación, esto es, un día antes de que termine el período de incubación, los ratones son sacrificados con éter o cloroformo.

Si se espera la aparición de síntomas nerviosos, ocurrirán muchas muertes con la consiguiente pérdida de material y sin que se obtengan títulos más altos.

En ningún caso deben cosecharse cerebros de animales de *más de 10 días* de edad ya que, a partir de esa edad, comienza a formarse la mielina y en ella están contenidas las sustancias responsables de la encefalomiелitis alérgica experimental.

Después de sacrificados, los ratones son fijados a una tabla de disección mediante una banda de goma. Se desinfecta la piel de la cabeza y cuello con alcohol yodado u otro desinfectante adecuado o se sumergen los animales, después de muertos, en la solución de fenol al 5%. Luego se extraen los cerebros por succión usando una jeringa de 2 ml provista de una aguja calibre 15 de $1\frac{1}{2}$ pulgadas de largo. Se introduce la aguja en la cavidad craneana a través del área frontal y se aspira suavemente, sin movimientos laterales, hasta extraer la materia cerebral, la cual es vaciada en un frasco de boca ancha con tapa a rosca (atornillada) de no más de 100 ml, que se mantiene parcialmente sumergido en hielo picado y sal. Si el material cosechado no fuera a utilizarse de inmediato, se almacena a una temperatura entre -20 y -30°C. Cada cerebro extraído en esta forma pesa generalmente entre 0,20 a 0,25 gramos.

En procesos de tipo industrial se justifica, en beneficio de la rapidez, el uso de vacío mecánico para la extracción de los cerebros, aunque este procedimiento disminuye ligeramente el rendimiento de la cosecha. Es necesario instalar el sistema de manera que se evite la succión de aire contaminado.

Preparación de la suspensión de cerebros para la vacuna y sus controles

Cuando se va a preparar la vacuna, los cerebros almacenados se descongelan parcialmente a temperatura ambiente y, sin esperar la descongelación total, se prepara una suspensión al 10% (peso/volumen) del tejido, en agua bidestilada estéril y refrigerada. Para obtener una suspensión fina se usa un "warring blender" u otro aparato similar y se homogeniza tres veces sucesivas, durante un minuto cada vez, con intervalos de 10 a 20 segundos.

Control de virulencia: La suspensión al 10% se titula intracerebralmente en ratones de 4 a 5 semanas (11-14 g.). Esta operación conviene hacerla lo más pronto posible después del proceso de dispersión mecánica, para evitar un descenso en el título. Se consideran títulos aceptables los que fluctúan entre $10^{-6.5}$ a $10^{-7.5}$.

Control de identidad: Esta prueba se practica en la misma forma que se indicó para la "suspensión stock de trabajo".

Control de contaminación bacteriana: Antes de proceder a la inactivación por irradiación con luz U.V., se hace un recuento bacteriano con el objeto de comprobar el grado de contaminación durante el proceso de elaboración de la suspensión al 10%. Para esto se siembra 1 ml de la suspensión, sin centrifugar, en cada uno de 5 tubos con 9 ml de caldo-tioglicolato. El quinto tubo se agita con una pipeta de 5 ml y se transfiere 1 ml en cada uno de 5 tubos de una nueva serie de medio (dilución 10^{-2}). Se continúa en esta misma forma hasta 10^{-6} . Se incuban todos los tubos y se observan diariamente durante 7 días. Se tolera desarrollo bacteriano hasta la serie de 10^{-4} inclusive. Suspensiones con mayor contaminación no deben destinarse a la preparación de vacunas para uso humano porque, aún cuando las bacterias sean destruidas por la luz U.V., este contenido bacteriano además de señalar deficiencias en el proceso de elaboración, aumenta las reacciones locales en tratamientos de más de 10 dosis.

Centrifugación en la preparación de vacuna para uso humano

Si la vacuna está destinada a uso humano, la suspensión de tejido al 10% se centrifuga por 10 minutos a 1.500 r.p.m. y se utiliza el sobrenadante completando el volumen original con agua bidestilada estéril y refrigerada.

Inactivación del virus y controles

La suspensión al 10%, centrifugada o no, se diluye al doble con agua bidestilada estéril y refrigerada, para obtener una concentración al 5%. Luego se inactiva el virus contenido en ella por medio de luz U.V. Para este objeto se puede utilizar el aparato denominado "Continuous flow plasma sterilizer", fabricado por la Compañía J.P. Dill Ultra-Violet, Kalamazoo, Michigan, EE.UU., el cual está equipado con un medidor de flujo modelo A-350. La suspensión de virus pasa en forma de una película por las paredes internas de un tubo de acero que gira a 1.000 r.p.m. Las lámparas que emiten la luz U.V. se encuentran en el centro del tubo a una distancia de 1 cm. de sus paredes. El material pasa frente a un juego de 4 lámparas de luz U.V., a una velocidad aproximada de 250 ml por minuto. Las lámparas utilizadas son las fabricadas por Westinghouse modelo G36T6L.

Prueba de avirulencia

Después de la inactivación, se inoculan 16 ratones adultos y 16 lactantes. Ninguno de los animales debe mostrar síntomas de rabia dentro de los 14 días siguientes.

Dilución final de la vacuna

Inmediatamente después de la irradiación, la suspensión al 5% se diluye en cuatro volúmenes de agua bidestilada que contiene fenol y mertiolato en cantidad suficiente para quedar al 1:1.000 y 1:10.000, respectivamente, en el producto final.

La adición de fenol y mertiolato tiene por objeto preservar el antígeno de la acción de las enzimas contenidas en el tejido nervioso así como la esterilidad. Es conveniente preparar una solución concentrada de estos preservativos para asegurar la esterilidad de la misma; a los 15 minutos de preparada esta solución, se la agrega, en cantidad adecuada, a cada frasco que contiene el diluyente para la suspensión al 1%.

Prueba de esterilidad

Se hará una prueba de esterilidad bacteriana a cada uno de los matraces o frascos que contengan vacuna, sembrando 1 ml de cada frasco en cada uno de por lo menos cuatro tubos de caldo-tioglicolato y cuatro tubos de Sabouraud glucosado. Se incubarán durante 7 días, los primeros a 37°C. y los tubos con Sabouraud a 22°C.

El producto no debe ser envasado sino hasta después que las pruebas de inactividad del virus y esterilidad bacteriana sean satisfactorias.

Potencia antigena

La potencia antigena se determina mediante la prueba de Habel o la de los NIH; esta última si se dispone de un patrón de referencia apropiado. Al hacer la prueba de Habel es conveniente diluir la vacuna 1:10 para obtener título final.

Prueba de esterilidad después de envasada la vacuna

Una vez envasado el producto se debe practicar una prueba de esterilidad con un número significativo de frascos o ampollas de cada uno de los lotes que se envasan.

REFERENCIAS

¹ Fuenzalida, E. y Palacios, R. Un método mejorado en la preparación de la vacuna antirrábica. *Bol. Inst. Bact. Chile*, 8, 3-10, 1955.

² Fuenzalida, E., Palacios, R. and Borgoño, M. Antirabies antibody response in man to vaccine made from infected suckling-mouse brains. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 39: 431-436, 1964.

³ Fuenzalida, E., Palacios, R. and Borgoño, M. The use of rabies vaccine prepared in suckling mouse brain. *International Symposium on Rabies*, Talloires, 1965. Symp. Series immunobiol. Standard, 1: 339-345 (Karger, Basel/New York, 1966).

⁴ Fuenzalida, E. Estado actual de desarrollo de la vacuna antirrábica preparada de cerebros de ratones lactantes en Latinoamérica, *XVIII Congreso Mundial de Medicina Veterinaria*, París, 1967 (a ser publicado).

ADDENDUM**Consideraciones sobre materiales, bioterio, laboratorios y personal necesarios para producir vacuna CRL****Materiales**

- Cepas de virus rábico fijo CVS, 51 y 91.
- Ratones lactantes albergados en cajas por familias.
- Licuadora tipo "warring blender" u "omni-mixer", estériles.
- Esterilizador por irradiación de luz U.V.
- Congeladores a -20 ó -30°C. y -70°C.
- Centrífuga para frascos de 500-1000 ml.
- Frascos o ampollas para envasar la vacuna.
- Frascos Pyrex o Jena, estériles, de 1000, 4000, 9000 y 18.000 ml.
- Pipetas estériles.
- Jeringas de 2 ml y de $\frac{1}{4}$ y 1 cm³ graduadas en centésimos.
- Agujas calibre 26 de $\frac{1}{4}$ " para inoculación intracerebral, y calibre 24 de $\frac{1}{2}$ " para inoculación intraperitoneal.
- Agujas calibre 15 de $1\frac{1}{2}$ " para extracción de masa encefálica.
- Tablas de disección y bandas de goma.
- Alcohol a 70°C. yodado para desinfección de la cabeza y cuello de los ratones.
- Agua bidestilada estéril y refrigerada.
- Suero equino inactivado.
- Eter pro narcosis o cloroformo.
- Fenol purísimo licuado al 90%.
- Timerosal (Mertiolato).
- Penicilina.

- Estreptomina.
- Hielo picado y sal de cocina.
- Tubos con caldo - tioglicolato de sodio.

Bioterio

Es fundamental para la producción de vacuna CRL, la organización de un criadero de ratones que permita un suministro semanal, regular, de las crías de 3-5 días, necesarias para el volumen de producción, previamente establecido.

Hay que tener en cuenta que una vez que se establece la producción de vacuna antirrábica en ratones lactantes, el criadero que sustenta esta producción debe estar completamente protegido de todo riesgo de infecciones virales o bacterianas o de deficiencias nutritivas.

Para un mejor control de la higiene, las unidades de producción deben estar constituidas por 2 a 4 hembras y un macho, de manera que no sea oneroso eliminar la unidad en el caso de infecciones.

En un bioterio dedicado exclusivamente a rabia, las hembras cuyas crías han sido inoculadas pueden volver a la reproducción una vez que estas últimas se sacrifican. En este caso las unidades identificadas se preparan con dos hembras y un macho, el cual permanece con ellas en el momento del parto. Tal práctica permite una producción acelerada de ratones lactantes durante ocho meses, al final de los cuales se elimina totalmente la unidad.

Laboratorios

En la producción de vacuna CRL deben considerarse espacios independientes para los diferentes procesos de la elaboración.

- a) La inoculación de los ratones lactantes y de los adultos que se utilizan en los diferentes controles se hace en una sala con estanterías murales y una mesa de trabajo. Cada hembra permanece con sus crías en una caja individual, con la indicación de la cepa de virus inoculada y el número de la unidad de donde proviene.

- b) La recolección de los cerebros de los ratones lactantes inoculados se hace en una cámara libre de contaminación ambiental. A esta cámara solamente ingresan los animales previamente preparados (fijación y desinfección de la piel).
- c) Todo el proceso de elaboración de la vacuna (preparación de la suspensión de cerebro, inactivación del virus, dilución final al 1% y cierre de los diferentes matraces) se practica en un laboratorio provisto de una doble ventana por la cual se introducen todos los elementos de elaboración.

Es obvio que este laboratorio debe contar con luz U.V. para esterilización ambiental. Además, debe ser fumigado 24 horas antes con solución saturada de timol en alcohol al 30%.

En este laboratorio solamente deben estar las mesas de trabajo.

Entre la etapa de preparación de la dilución virulenta al 5%, para ser irradiada, y las diluciones finales hasta el 1%, de la suspensión inactivada, se hace una interrupción durante la cual se sacan a través de la doble ventana todos los materiales contaminados; se enciende la luz U.V. por una o dos horas y se ingresan los materiales para preparar la dilución final.

Personal

Sin considerar el personal que trabaje en el bioterio, un laboratorio está capacitado para producir mensualmente 600 litros de vacuna con 4 personas, trabajando durante 5 días por semana con jornada de 8 horas. Este personal hará la inoculación de lactantes, cosecha de cerebros, elaboración de vacuna, esterilización, preparación de material de vidrio y las pruebas de control. Además debe haber un técnico profesional responsable de la producción y vigilancia del bioterio.

En el bioterio pueden trabajar 2 personas para las primeras 250 unidades de crianza y por cada 250 adicionales debe consignarse 1 empleado más.

Lunes: Cosecha de cerebros de animales inoculados el jueves anterior e inoculación de lactantes. Inoculación de vacuna en animales para control o confrontación cuando corresponda.

Martes: Esterilización de materiales de elaboración de vacuna (frascos homogenizadores, agua bidestilada, pipetas y cristalería en general).

Miércoles: Elaboración de 150 litros de vacuna y controles (inocuidad, identidad, virulencia, esterilidad).

Jueves: Esterilización de materiales. Inoculación de ratones lactantes.

Viernes: Cosecha de cerebros de ratones lactantes inoculados el lunes. Limpieza y esterilización ambiental en los laboratorios.

Cada día se hace la observación de los animales inoculados en las diferentes pruebas de control.

Estas son las condiciones de trabajo presentes en el Instituto Bacteriológico de Chile, donde se elabora este tipo de vacuna desde 1954.

INDICE

INTRODUCCION.....	5
-------------------	---

PARTE I

Trabajos presentados

Capítulo I	- Situación de la rabia en el mundo, por Martín Kaplan y M. Shiffman.....	9
Capítulo II	- Metas futuras en la investigación de la rabia, por J. Campbell, H. Koprowski, E. Kuwert, F. Sokol y T. Wiktor.....	35
Capítulo III	- Patogénesis de la rabia, por H. N. Johnson.....	68
	- Patogénesis de la rabia en murciélagos, por G. M. Baer.....	78
	- Presencia de virus rábico en órganos de mur- ciélagos hematófagos, por R. A. da Silva y A. M. de Souza.....	95
Capítulo IV	- Epidemiología de la rabia en bovinos y en murciélagos, por P. Acha.....	103
	- Conceptos nuevos sobre la epidemiología y el control de la rabia, por J. H. Steele.....	142
	- Comentario sobre el control de la rabia, con especial referencia a México, Uruguay y Ve- nezuela.....	178
Capítulo V	- Caracterización del virus rábico y diagnóstico, por P. Atanasiu.....	195
	- Respuesta de células "in vitro" a infección rábica, por M. V. Fernandes.....	218

Capítulo VI	- Rabia en animales silvestres, por R. K. Sikes	240
Capítulo VII	- Prevención de la rabia (Vacunas), por K. Habel	260
	Vacuna de cerebro de ratón lactante, por E. Fuenzalida	271
	Vacunas de cultivo de tejido, por M. K. Abelseh	286
	Purificación de vacunas antirrábicas, por O. P. Larghi	300
Capítulo VIII	- Infección rábica latente, por O. Soave	306
 PARTE II		
	Informes de los países	313
 PARTE III		
	Informe final	438
 ANEXOS —		
1.	- Programa	447
2.	- Nómina de consultores	451
3.	- Nómina de participantes	454
4.	- Recomendaciones del Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos	464
5.	- Instrucciones para el tratamiento de mordeduras y contactos (OMS)	473
6.	- Método de preparación de la vacuna antirrábica en cerebro de ratón lactante (Nota Técnica CPZ)	478

Impreso en **ARTIGRAF Establecimientos Gráficos,**
Dean Funes 1960, Buenos Aires, República Argentina
