

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS**



## **AISLAMIENTO DE UNA CEPA DE VIRUS RÁBICO CON CARACTERÍSTICAS DE BAJA PATOGENICIDAD INOCUA PARA CANIDEOS DOMÉSTICOS**

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**  
PRESENTAN LOS PASANTES

**ARANA COLDIVAR SILVIA  
GUERRERO MÉNDEZ FRANCISCO GABRIEL  
RODRÍGUEZ DÍAZ PALEMÓN**

DIRECTOR DE TESIS  
**M.V.Z. DAVID ÁVILA FIGUEROA**

ASESOR DE TESIS  
**M.C. ELIZABETH LOZA RUBIO**

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, MARZO DE 1996

## DEDICATORIAS

### A MIS HERMANOS

Ofelia, Antonia, Ma. Luisa, Ma. Elba (+), Cecilia, Pablo, Magdaleno,  
Rosa Ilda, y Lourdes.

Con cariño y respeto para todos.

### A MIS SOBRINOS

Con amor y cariño

Con cariño

AJ M.V.Z. Pablo Coldivar Díaz y M.V.Z. Juanita Acero Ortega

Quienes siempre me impulsaron a continuar mi carrera con su ejemplo y tenacidad.

### A MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO

Gracias por su apoyo.

Silvia

## DEDICATORIAS

### CON AMOR Y FE A DIOS

Tú que haz sabido guiarnos por el camino de la vida, con paciencia, por brindarnos salud, fortaleza y sabiduría en todo momento y por permitirnos llegar a una de nuestras metas.

### A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Nuestra máxima casa de estudios, con cariño, respeto y agradecimiento.

### A LA DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS

Que nos brindó un espacio y la oportunidad de superarnos.

### A NUESTROS MAESTROS

Por el apoyo y conocimiento que nos otorgaron desde el inicio de nuestra carrera hasta el final de la misma.

### A NUESTRO DIRECTOR, M.V.Z. DAVID AVILA FIGUEROA

### A NUESTRO ASESOR, M.C. ELIZABETH LOZA RUBIO

Por su calidad humana, paciencia y apoyo brindado para la realización de este trabajo y a quienes dedico con todo respeto.

### AL DIRECTOR DEL CENTRO ANTIRRABICO DE GUADALAJARA

Por el apoyo que nos brindó en la realización de la investigación.

### A NUESTROS COMPAÑEROS Y AMIGOS

Que siempre nos ayudaron a romper barreras con la que tropezábamos para llegar a donde estamos.

### A NUESTRO JURADO DE EXAMEN

M.V.Z. José Luis de la Torre

M.V.Z. Enrique Espinoza Pérez

M.V.Z. Juanita Acero Ortega

Con respeto y cariño a todas las personas que nos apoyaron en el transcurso de nuestra carrera y contribuyeron valiosamente a nuestra formación profesional.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN .....	X
INTRODUCCIÓN .....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
JUSTIFICACIÓN .....	15
HIPÓTESIS .....	16
OBJETIVOS .....	17
MATERIAL Y MÉTODOS .....	18
RESULTADOS .....	21
DISCUSIÓN .....	23
CONCLUSIONES .....	25
BIBLIOGRAFÍA .....	26

## **RESUMEN**

La rabia es ocasionada por un virus RNA, afecta a todos los animales de sangre caliente, esta ha sido reconocida desde la antigüedad, pero Celso en el Siglo I hizo de la rabia su campo de estudio, de igual manera se ha ido informando desde el siglo XVI, sobre la misma. Para saber mas de la naturaleza de la misma se realizó un trabajo de investigación, en el cual primeramente se obtuvo una cepa de virus rábico, aislada de un perro que presentaba signos clínicos de la enfermedad. De esta cepa se inocularon 10 perros, los cuales fueron muestreados, obteniéndose sangre y líquido cefalorraquídeo para determinar niveles de anticuerpos contra el virus. Una vez realizadas las pruebas de laboratorio dieron resultados de que no presentaron la enfermedad, pero en un solo caso se identificaron anticuerpos contra el virus.

## INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el perro ha sido considerado como la especie prototípica para la Rabia. Celso en el siglo I hizo de la rabia su campo de estudio particular, fue el primero en recomendar la cauterización de la mordedura de un animal rabioso.(5)

Zinke en 1804 reconoció la naturaleza infecciosa de la saliva de un perro infeccioso. En 1880 se creía en la posibilidad de su desarrollo espontáneo y se admitía que podían provocarla animales calientes, privación de agua para beber, la falta de satisfacer el instinto reproductivo y las excitaciones nerviosas intensas. (18)

En 1881 Pasteur publicó su primer informe y demostró por primera vez el neurotropismo del virus de la rabia. Se le debe el mérito de la famosa inoculación antirrábica de un niño mordido por un lobo rabioso en 1885. Reminger en 1903, demostró la naturaleza viral de este agente por su calidad filtrable, en el mismo año Negri señaló el valor diagnóstico de las inoculaciones intracitoplasmáticas específicas (Cuerpos de Negri) en las células nerviosas de los animales rabiosos. (25)

Esta enfermedad se reconoce desde hace muchos siglos en Europa, los colonos la introdujeron a América al traer perros infectados. (13,19)

La situación registrada sobre la rabia en las Américas, según la información proporcionada por los países al Centro Panamericano de Zoonosis y la propia experiencia del Centro de la OMS y OPS se refleja en aproximadamente 300 muertes y la necesidad de administrar tratamiento a miles de personas atacadas por perros rabiosos. En América Latina en el decenio de 1970-1979 se aplicó tratamiento a unas 2'600,000 personas (15,16,30). En Chile en 1972 se registró el último caso de Rabia Humana y se está llevando a cabo un programa de erradicación de Rabia canina. (1,16,30)

RABIA EN PERROS: En el decenio de 1970, disminuyó la Rabia en un 37% y durante el mes de Julio de 1991 se conocieron 7 casos de Rabia canina comprobada por laboratorio; de los cuales 3 corresponden a la Jurisdicción Sanitaria X HIDALGO - ZAPOPAN, 1 a la Jurisdicción Sanitaria XIII REFORMA - TLAQUEPAQUE, 1 a la Jurisdicción V TAMAZULA y 2 a la Jurisdicción VI CIUDAD GUZMÁN. (7,28,29)

DEFINICIÓN:

Es una enfermedad viral, infectocontagiosa, aguda y mortal que afecta principalmente al Sistema Nervioso Central, por lo general el virus entra al organismo por contacto directo de la saliva (mordedura o contaminación de heridas), la vía aerógena (a través de las mucosas de la boca y ojos), se ha encontrado además que la vía trasplacentaria desempeña un papel importante en su propagación en animales silvestres (1,6,10,14,25,26)

Se manifiesta en los casos típicos, por un trastorno del conocimiento, aumento de la excitabilidad nerviosa y síntomas paralíticos consecutivos, su agente patógeno es un virus. (7,10,17,25,28)

SINONIMIAS:

Hidrofobia, Derriengue, Tollwt o Wut (alemán), Le Rage (Francés), Rabies (Inglés), Lyssa, Encefalomiелitis Bovina. (2,5,8,10,12,26,33)

La rabia es una palabra que proviene del Latín: *Rabbas* que significa actuar con violencia. (2,3,5,19,35)

Lesiona en forma considerable el Sistema Nervioso e infecta glándulas y otros tejidos derivados del ectodermo, generalmente provoca la muerte. (24,33,35)

ETIOLOGÍA:

Es ocasionada por un virus RNA de la Familia Rabdoviridae género Lyssavirus, forma de bala, núcleo helicoidal.(2,8,26)

El virus mide aproximadamente 80x180nm., está constituido por RNA y por 4 proteínas mayores y una menor. (7,13,19)

### MORFOLOGÍA Y QUÍMICA VIRAL:

El virión en forma de bala contiene 67% de Proteína, 26% de Lípido, 4% de RNA y 3% de Carbohidratos vinculados en forma covalente al lípido y proteína. (19,26)

Está constituido por RNA y 4 proteínas mayores y 1 menor (glicoproteína GLP de 800,000 Daltons, Nucleocápside NCP de 62,000 Daltons, Nucleoproteína NCP de 55,000 Daltons y EP-Z de 400,000 Daltons). La importancia de su superficie es la cubierta de proyecciones (peplomeros de 75-80 nm. de ancho por unos 180 nm de largo), tiene la propiedad de hemaglutinizar glóbulos rojos de ganso. (17,18)

El RNA funciona como una cadena que une subunidades del virus entre si dentro de la célula produce matrices a los corpúsculos intracitoplasmáticos de Negri. (8,11,12,18)

### CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS:

El virus es semejante al Mixovirus, se han identificado 5 polipéptidos del virus de la rabia (RV) es: dos nucleoproteínas (N y NS), una glicoproteína (G) y dos proteínas de membrana (m y M<sub>2</sub>). Se cree que la proteína N representa al grupo antígeno, mientras que la proteína G (la más grande) determina el serotipo. (11,12)

En unos estudios relativamente recientes han permitido constatar que en la naturaleza, el virus rábico es más estable que otros virales, este agente se encuentra sometido a una multitud de presiones selectivas a causa de la gran variedad de géneros y especies que puede afectar.

Esto se ha podido demostrar gracias a la llegada de los anticuerpos monoclonales (AM), que son inmunoglobulinas homogéneas y específicas contra los epitotes presentes en el agente inmunizante. Se obtiene al fusionar células productoras de anticuerpos, generalmente provenientes del bazo de un animal inmunizado. (22,23,26)

Gracias al advenimiento de los anticuerpos monoclonales se ha comprobado la existencia de diversas cepas de virus rábico que varían tanto en sus propiedades biológicas como la composición antigénica. Con esto se ha logrado clasificar los siguientes serotipos:

*Serotipo 1:* Cepa prototipo del virus patrón de prueba CVS.

*Serotipo 2:* Lagos (Murciélago de África).

*Serotipo 3:* Mokola (Musaraña).

*Serotipo 4:* Prototipo Duvenhage, aislado en el hombre de Sudáfrica y Europa Central. (22,36)



### PRUEBA BIOLÓGICA:

Teniendo en cuenta que no siempre puede encontrarse corpúsculos de Negri en el encéfalo de los animales muertos de rabia, en los casos negativos es importante investigar la presencia del virus mediante la inoculación en ratones lactantes. En encuestas extensas hechas con gran cantidad de casos de rabia, han demostrado que en el 10-15% de los casos que resultaron positivos a la enfermedad, en la inoculación al ratón no se había observado corpúsculos de Negri en el examen microscópico directo de la extensión. En consecuencia, es muy recomendable que los laboratorios de diagnóstico de Rabia estén en condiciones de efectuar pruebas de inoculación de animales con los tejidos Negri - negativos. (20,28)

### INOCULACIÓN AL RATÓN :

El ratón lactante es el animal más susceptible a la prueba de la inoculación. Mientras el periodo de inoculación del virus de la calle es de 7 a 18 días y a veces más, la técnica AF permite en ocasiones descubrir el antígeno rábico al segundo día de la inoculación.

Para la prueba de inoculación se aconseja utilizar de 15 a 20 ratones lactantes o de 3 a 5 semanas del segundo día de la inoculación, lo que permitirá descubrir rápidamente el virus por la técnica de AF o por la Tinción de los Corpúsculos de Negri. (11,12,20,28)



2)  $DL\ 50\% = 50 - 33 = 17 = 0.2$  (distancia proporcional).

3) Se busca la dilución que se da una mortalidad inmediatamente inferior al 50%. En este caso que la dilución de  $10^{-5}$  que dio una mortalidad del 33% y se le resta el 0.2. (20,28)

#### CULTIVO :

Puede ser el virus cultivado en ratones, hámster, conejos y otros animales de laboratorio; se refiere la vía de inoculación intracerebral. También se puede aislar el virus en varios tipos de cultivos celulares como células nerviosas, embrión de ratón, cerebro de pollo, riñón de hámster, líneas celulares BHK y RE, células diploides humanas, cultivos de grasa, fibroblastos de embrión de pollo, etc. (20,28)

#### RESISTENCIA :

Es resistente a la putrefacción, desecación, grandes fríos, glicerinas, estabilidad relativa a un pH entre 3 y 11. (20)

#### SENSIBILIDAD :

Es inactivado por medio de Beta - propiolactona. El virus es destruido por los ácidos, álcalis, fenol, formalina, cloroformo y cloruro de mercurio, luz ultravioleta y pasteurización etanol al 45 - 70%. (20)

### PATOGENESIS :

El virus es inoculado en la herida con la saliva infectante. la transmisión por piel es por lesión e inhalación y a través de las mucosas de boca y ojos. El período de incubación varía en perros de 10 - 16 días, los signos clínicos pueden aparecer de 15 -25 días.

El virus se desplaza en dirección centripeta a lo largo de los axones de nervios periféricos y después de su entrada en el Sistema Nervioso Central casi siempre por la médula espinal, su trayecto hacia el cerebro es rápido. Aunque el Sistema Nervioso Central, es sin duda la meta del virus rábico, este agente afecta también otros órganos, como las glándulas salivales, por movimiento centrífugo a lo largo de la vía exoplásmica, siendo tal estímulo dinámico la causa de la acumulación del virus en las secreciones bucales. (17,25,26)

### PATOGENIA EN CANINOS :

Por su propiedad neurotrópica, el virus rábico penetra, desde la puerta de entrada, a lo largo de los nervios hacia el Sistema Nervioso Central, donde se propaga después de modo paulatino, llegando a lo largo de los nervios en dirección centripeta. Progresando en dirección centrífuga a las glándulas salivales y pasa luego a la secreción salival. El período de incubación dura aproximadamente de 2 - 6 semanas. (17)

### CUADRO CLÍNICO :

El cuadro clínico de la enfermedad puede dividirse en tres fases:

1. FASE PODRÓMICA:

(Melancólica), dura de 2 - 3 días, hay fiebre ligera, reflejo corneal lento, dilatación de pupilas, apatía, el animal no obedece, temeroso, anoréxico, excitabilidad, parestesia del punto de mordida, automutilaciones.

2. FASE DE EXCITACIÓN:

(Furia) dura de 1 - 7 días, hay fotofobia, solitario, pupilas dilatadas, asimétricas, apetito deprimido, vaga sin rumbo, ptialismo, nervioso, atacan a personas extrañas y posteriormente atacan incluso al dueño, en el caso de que estén amarrados muerden la cuerda o cadena, jaula o incluso ellos mismos se atacan, salivación hilante y después espumosa, tragan objetos extraños y dan la impresión de no sentir dolor, presentan parálisis de la mandíbula inferior.

3. FASE PARALÍTICA:

(Muda) dura de 2 - 8 días, parálisis laríngea, ladrido ausente o raro, ptialismo, deglución imposible, boca abierta, estrabismo, nistagmo aumentado, ataxia, espasmos musculares, mirada lejana, coma y muerte. (2,3,4,5,7,8,9,12,14,17,24,26,27,31,36)

EPIDEMIOLOGÍA Y EPIZOTIOLOGIA :

Es de distribución mundial, afecta a todo el Continente Americano, solamente Bermuda, Jamaica, todas las Islas de Barlovento y Sotavento y Uruguay están exentos de la enfermedad. (1,21,29,30,31)

Afecta a todas las especies animales principalmente a las de sangre caliente. Es transmitida por medio de mordeduras de animales enfermos o infectados por el virus rábico. (21,31,34,35,36)

La enfermedad se presenta en cualquier época del año, la fuente de infección es la saliva o mordedura del animal enfermo.

Los mecanismos de contagio son la saliva del animal infectado en un 95%. (21,31,34)

#### DIAGNÓSTICO :

Para hacerlo se deben tomar en cuenta la historia clínica, los signos clínicos y la presencia de las lesiones a la necropsia; todo esto combinado con los resultados de las pruebas de laboratorio de los animales sospechosos, los cuales no se deben sacrificar, sino que se deben someter a observación con vigilancia rigurosa en espera de su muerte natural. Para el diagnóstico de laboratorio se deben hacer ciertas pruebas como:

1. Histopatológico (corteza, hipocampo y cerebelo)
2. Tinción de Sellers (impronta directa)
3. Prueba de Anticuerpos Fluorescentes (Tinción directa)
4. Prueba biológica (inoculación intracerebral al ratón lactante o 21 días)
5. Recolección de Líquido cefalorraquídeo (Citologías)
6. Fijación del complemento.

El diagnóstico de laboratorio incluye:

1. Identificación de cuerpos de Negri, en células de hipocampo teñidas por los métodos de Giemsa o Sellers.
2. Inoculación Intracerebral de ratones destetados con la suspensión de cerebro, suelen aparecer los signos de 6 a 15 días.
3. La prueba de Anticuerpos Fluorescentes (AF) ampliamente usada, se emplea para el mismo frotis de cerebro de preferencia Hipocampo, Bulbo raquídeo y Cerebelo. Puede intentarse aislar el virus en cerebro y saliva.

Han logrado popularidad para Serodiagnóstico las pruebas de Neutralización del virus (VH) y de Anticuerpos Fluorescentes (AF), aunque puede utilizarse la fijación del Complemento. (12,17,24)

#### TRATAMIENTO :

Una vez mordida la persona se lavará la herida con sumo cuidado y durante varios minutos, con sales de amonio cuaternario o detergente, si es mordedura en la cabeza aplicar suero hiperinmune o gama-globulinas específicas alrededor de la herida. (17,37)

El tratamiento antirrábico después de la exposición en el hombre incluye actualmente una inyección intramuscular de globulinas gamma hiperinmunes, además de una dosis diaria de vacuna muerta de embrión de pato.

Entre las vacunas atenuadas destacan las cepas Flury con pocos pases en huevo (embrión de pollo) (LEP) o con pases múltiples (HEP). Para la inmunización en perros y gatos, la cepa LEP es menos atenuada y debe administrarse a perros adultos, mientras que la HEP se prescribe a cachorros. (20,30,34)

### PREVENCIÓN Y CONTROL :

Desde la época de Pasteur, se han desarrollado diferentes productos biológicos (vacunas), como forma de prevención de la rabia. Actualmente, existen vacunas inactivadas y de virus vivo modificado elaborados tanto en animales, como en cultivo de tejidos. Entre ellas están la vacuna Fuenzalida, vacunas de virus vivo modificado, vacunas elaboradas en embrión de pollo y pato, vacunas de células diploides humanas y vacunas de tejido tisular.

La forma más efectiva para combatir la rabia es mediante el establecimiento de medidas de control de las poblaciones de perros callejeros y medidas encaminadas a la vacunación de animales domésticos en contra de la enfermedad son:

1. La vacunación de perros con vacunas inactivadas en tejido nervioso, por medio de programas intensivos de inmunización colectiva, patrocinados por los organismos oficiales en puestos de vacunación temporales y de urgencia.
2. Recoger, detener y destruir perros extraviados o vagabundos y de los no vagabundos que se encuentren fuera de la propiedad de sus respectivos dueños. (1,32,33)

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La rabia es una afección que causa gran mortalidad del 100% de los animales que la padecen, es altamente transmisible y depende del vector que participe (6,19,25,27), en los animales domésticos se presenta primordialmente en perros y gatos aunque también se observa en otras especies, ocasionando una pérdida económica importante en bovinos. (1,4,7,9,11,24)

En un estudio epidemiológico se encontró que entre 1970-1990 en el Estado de Jalisco, se presentaron 2,288 casos sospechosos a Rabia, de los cuales se confirmaron 838 positivos (37%) y 1,450 negativos (63%) con una frecuencia del 38% en caninos y 5% en felinos. Los Municipios con mayor frecuencia fueron: Guadalajara, Puerto Vallarta, Ameca y Tepatitlán. (30)

En otro estudio epidemiológico comprendido de 1990-1991 se notificó que 89 personas fueron mordidas por perros callejeros en un 95% en el Estado de Jalisco. (23)

Muchas de las personas son vacunadas al ser mordidas por los perros agresores y muchas de las veces el Sector Salud no toma en cuenta que la reacción de la vacuna es muy molesta y dolorosa; esto lo hacen sin estar seguros que en realidad el perro presenta en sí la enfermedad; por lo que en algunas ocasiones sacrifican al animal sin estar seguros del diagnóstico definitivo de la enfermedad, el cual generalmente se realiza mediante la técnica de Anticuerpos Fluorescentes (AF).

## JUSTIFICACIÓN

Las actividades de salud humana están íntimamente ligadas con la salud animal porque comparten las metas de *proteger, fomentar y mejorar* la salud para el bienestar de los seres humanos. (18)

En los últimos años se han hecho evidentes el valor que tienen el conocimiento de la frecuencia y distribución de las enfermedades en la planificación de la asistencia sanitaria (12,17), ya que en el caso de la rabia es importante implementar técnicas de diagnóstico que permitan confirmar la sospecha de la enfermedad en aquellos animales que hayan agredido a una persona; así como a los propios canes.

Para completar lo anterior se debe tener en observación al animal que agredió o mordió a la persona o animal, por un lapso de 10 días, para comprobar si realmente el animal es sospechoso a Rabia. Una vez comprobado su positividad por medio de técnicas de laboratorio, se procederá a vacunar a la persona afectada para prevenir la enfermedad aunque esto representa un riesgo y molestia para quien recibe el tratamiento sin contar con el gasto que representa el mismo. Además muchas de las veces se sacrifican animales indiscriminadamente, lo cual genera inconformidad de los dueños ya que hay ocasiones en que sus perros tienen un valor estimativo alto.

## **HIPÓTESIS**

Según la literatura el virus rábico una vez que afecta a un animal le causará la muerte en casi en 100% de los casos.

Sin embargo hay cepas poco patógenas, las cuales aunque sean inoculadas en la misma especie animal de su procedencia, es factible que no genere enfermedad y sólo se identifiquen anticuerpos contra el virus.

## OBJETIVOS

### OBJETIVOS GENERALES:

1. Aislar una cepa de calle de virus rábico obtenida a partir de un perro infectado en forma natural.

### OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Identificar cambios histológicos en cerebro y cerebelo de perros inoculados por una cepa de calle de virus rábico.
2. Determinar la patogenicidad de una cepa de virus rábico de origen canideo inoculada por vía intramuscular en esta misma especie.
3. Determinar los niveles de anticuerpos en suero sanguíneo y líquido cefalorraquídeo de perros inoculados con una cepa de virus rábico de origen canideo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente trabajo, primeramente se obtuvo una cepa de virus rábico, aislada a partir de un perro. Para ello se capturó un perro con signos clínicos de la enfermedad; después de su muerte se le extrajo el cerebro y con una muestra de tejido encefálico se practicó la técnica de Inmunofluorescencia en el Centro de Salud Animal de Tlaquepaque, Jalisco, comprobándose de esta manera su positividad a rabia. Posteriormente con otra muestra de cerebro se hizo una suspensión al 20% en solución BAP'S (Solución Albúmina), la cual se envasó en 50 alícuotas de 1 ml. y se almacenó a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Para su titulación se descongeló un vial y se hicieron diluciones logarítmicas en base diez y por cada una se inocularon 10 ratones lactantes, de 5 días de edad con 0.03 ml. por vía intracerebral.

El cálculo del título se obtuvo mediante la técnica de Reed y Muench, con esto se determinó la dilución en la cual se tenían 300 DL 50%. Las 49 alícuotas restantes se mantuvieron en congelación a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

Para el desafío, se obtuvieron 12 perros de la Zona Metropolitana y Áreas Conurbadas de Guadalajara, Jalisco, las cuales tuvieron las siguientes características:

- a) Todos del sexo masculino
- b) Con una altura, edad y peso similares
- c) Clínicamente sanos.

Una vez seleccionados se trasladaron al Centro Antirrábico Municipal, se colocaron en jaulas individuales y se identificaron mediante la numeración del 1 al 12, los últimos dos (11 y 12) fueron los testigos. Todos se tuvieron en observación por un período de 8 días comprobando con esto que no presentaran signos de enfermedad. Se extrajeron 5 ml. de sangre y 6 gr. de excremento de cada animal.

Las muestras de suero se enviaron al Centro de Microbiología de Palo Alto (INIFAP) en el D.F., para la identificación de anticuerpos contra el virus rábico. Las heces se trabajaron en la División de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Guadalajara, donde se hizo un coproparasitoscópico por flotación.

El mismo día en que se tomaron las muestras de sangre, se inocularon por vía intramuscular, en músculos maseteros, 10 perros con 0.7 ml., lo cual representa 6,900 DL 50% de virus rábico.

Después de 10 días de la inoculación, los perros fueron nuevamente muestreados, obteniéndose sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR). Para extraer la sangre se utilizaron jeringas de 5 ml. y agujas de 22x32, para obtener el líquido cefalorraquídeo se logró mediante la punción intramedular con una jeringa de 10 ml. y aguja del 22x32 una vez obtenido el líquido cefalorraquídeo se llevó a congelación para posteriormente determinar niveles de anticuerpos. Después de 38 días de observación, los perros se sacrificaron mediante la aplicación de sobredosis de Pentobarbital sódico. Se practicó la necropsia y se recolectó el cerebro y cerebelo, se dividieron en dos partes, una en fresco y otra en formol, con la muestra en fresco se realizó la prueba de Inmunofluorescencia en la SSBS y la de formol sirvió para el estudio histopatológico, que se efectuó en la División de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Guadalajara.

Los resultados obtenidos se presentan en gráficas y cuadros para su mejor comprensión.

## RESULTADOS

La cepa de virus rábico de calle obtenida tuvo un título de  $10^{-3}$  DL50% I.C.R.L. por 0.03 ml. (Dosis letal 50% por vía intracerebral en ratón lactante).

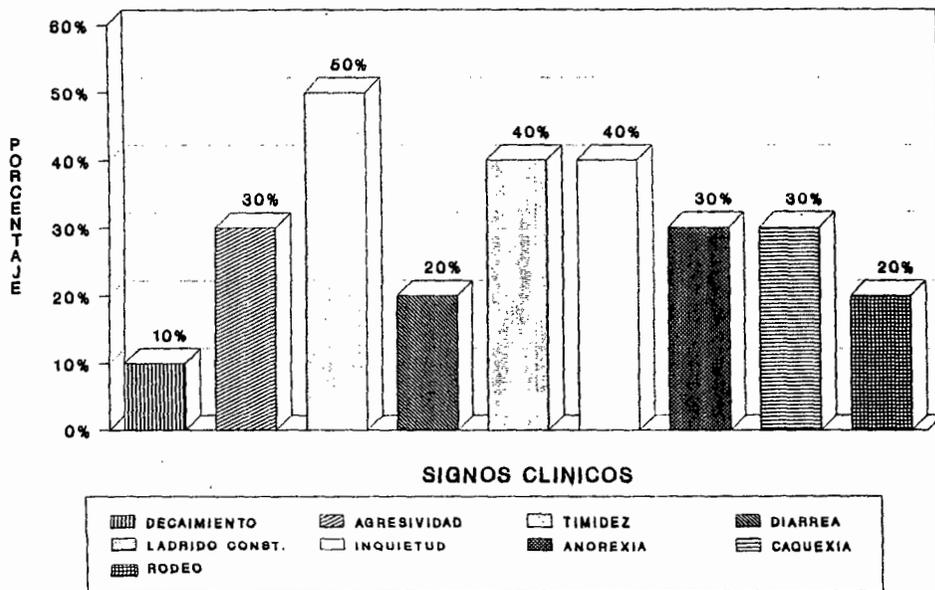
Dicha cepa al ser inoculada en perros seronegativos al virus rábico, mostró características de baja patogenicidad, ya que se observó el comportamiento en los animales, los cuales presentaron los siguientes signos y síntomas: Decaimiento, agresividad, timidez, diarrea, ladrido constante, inquietud, anorexia, caquexia y rodeo, todos ellos en bajo porcentaje. (Gráfica No. 1)

En la pruebas de Serología sanguínea, no revelan la presencia de Anticuerpos contra el virus rábico en las diluciones 1:5, 1:25, 1:125, 1:625.

Pero en las pruebas de Serología de Líquido Cefalorraquídeo, dieron un solo resultado positivo con un título de 1:5.

La información dada por la SSBS de los exámenes de Inmunofluorescencia efectuados en las muestras de cerebro y cerebelo fueron negativos. Y en el caso de los histopatológicos efectuados en la Universidad de Guadalajara, no informan de lesiones sugestivas a rabia.

**GRAFICA No. 1**  
**SIGNOS CLINICOS QUE PRESENTARON LOS**  
**PERROS DURANTE UN PERIODO DE 10 DIAS**  
**POSTINOCULACION DEL VIRUS RABICO**



**CUADRO No. 1** SIGNOS CLÍNICOS QUE PRESENTARON LOS PERROS DURANTE UN PERIODO DE 10 DÍAS POST-INOCULACIÓN DE VIRUS RÁBICO

No. de caninos	Ladrido constante	Rodeo	Agresividad	Inquietud	Timidez	Anorexia	Diarrea	Caquexia	Decaimiento	TOTAL
1		X		X			X			3
2	X				X	X				3
3			x	x						2
4		X			x					2
5	x			x				x		3
6			x		x					2
7					x			x		2
8	x			x		x	x		x	5
9			x		x					2
10	X					X		X		3
Testigo 1										-
Testigo 2										-
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>27</b>

## DISCUSIÓN

Se obtuvo una cepa de virus rábico de calle de baja patogenicidad, la cual al ser inoculada en los 10 perros sometidos a estudio, aplicándoles 6,900 DL 50% no presentaron la enfermedad, pero en un caso solo se identificaron anticuerpos contra el virus.

Según la literatura no todas las cepas de calle producen cuerpos de inclusión (De Negri), éstas son las llamadas No Negrigénicas (aproximadamente un 30%). (17,27)

El perro tiene una susceptibilidad intermedia a la rabia siendo mucho más resistente la zorra (7), Deal y Col. (1964) inocularon perros con 26 DL 50 para perros de virus rábico de calle, siendo la DL 50 Intracerebral para el ratón (DL50 ICR). Lo cual significa que en la investigación realizada si se inoculó un buen porcentaje de DL a cada perro.

Aunque en el presente trabajo los animales que se inocularon no presentaron los signos clínicos de la enfermedad en el corto tiempo de observación, existe mucha bibliografía que respalda el hecho de que los resultados de las pruebas de serología, histología y el comportamiento, mencionan la existencia de virus rábico de virulencia moderada natural o experimentalmente, con capacidad de producir infecciones persistentes o tolerantes en animales de laboratorio especialmente aquellos aislados de equinos.

Además señala que uno de los cambios en las células infectadas es desaparición del antígeno viral (período de eclipse) y la subsecuente aparición de nuevo virus detectable por la prueba AF y aislamiento viral, pero esto no necesariamente sucede inmediatamente, sobre todo cuando se trata de virus de replicación letal. (1,5,8,9,12,16)

En este caso aparentemente se trata de un aislamiento de baja patogenicidad ya que no genera la enfermedad, esto según la literatura es probable muchas de las veces el virus rábico introducido en el cuerpo o alojado en él, es destruido. (17)

La enfermedad es, de ordinario pero no infaliblemente letal. La posibilidad de la curación se ha demostrado, por ejemplo, mediante perros infectados artificialmente con virus de la calle, los cuales se han recuperado de la enfermedad. (17,20,25,26)

Los signos clínicos en los 10 perros inoculados pueden ser relacionados con una infección secundaria.

### CONCLUSIONES

1. Se obtuvo una cepa de virus rábico de baja patogenicidad, al ser inoculada por vía intramuscular en perros.
2. Se logró identificar Anticuerpos contra el virus rábico, mediante la técnica de Seroneutralización en Líquido Cefalorraquídeo de perros inoculados por vía intramuscular con 6 900 DL 50% de virus rábico.



**BIBLIOGRAFÍA**

1. ACHA P.N. SZYFRES. **ZOONOSIS Y ENFERMEDADES TRANSMISIBLES COMUNES AL HOMBRE Y ANIMALES** ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. PUBLICACIONES CIENTÍFICAS. SEGUNDA EDICIÓN No. 503. MÉXICO 1988. PP. 502-522
2. ANCHOR. BOLETÍN. **LA RABIA**. MÉXICO 1986. PP. 1-4
3. ATANASIU P. **NUEVOS DATOS SOBRE LA PREVENCIÓN CONTRA LA RABIA HUMANA ANTES Y DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN**. SALUD PÚBLICA DE MÉXICO 1979. PP. 331-340
4. ÁVILA F.D. **ESTUDIO DE LA PATOGÉNESIS DE LA RABIA EN PERROS INFECTADOS NATURALMENTE**. TESIS F.M.V.Z. UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. 1982
5. BAER G.M. **HISTORIA NATURAL DE LA RABIA**. LA PRENSA MÉDICA MEXICANA S.A. EDITORIAL CIENTÍFICA. 1982. P. 32-163
6. BAER G.M. **RABIA BOVINA PARALÍTICA**. LA PRENSA MÉDICA MEXICANA S.A. EDITORIAL CIENTÍFICA. 1982 PP. 63-82
7. BAER G.M. Y COLS. **RABIA**. LA PRENSA MÉDICA MEXICANA S.A. EDITORIAL CIENTÍFICA. 1982 PP. 30-55

8. BAER G.M. Y COLS. **BACTERIOLOGÍA Y VIROLOGÍA VETERINARIA**. EDITORIAL ACRIBIA, ZARAGOZA ESPAÑA 1982. PP. 764-771
9. BATALLA C.D. Y COLS **RABIA**. 6ª REIMPRESIÓN 1990. SARH-INIP.
10. BATALLA C.D. **SITUACIÓN ACTUAL DE LA RABIA PARALÍTICA BOVINA EN MÉXICO**. TÉCNICA PECUARIA EN MÉXICO. SARH. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES PECUARIAS. SUPLEMENTO 8. MÉXICO 1983. PP. 80-82
11. CONSTANTINE D.G. **TRANSMISIÓN EXPERIMENTAL BAT. RABIES. RESPONCES OF CERTAIN CARNIVORA TO RABIES VIRUS ISOLATED FROM INFECTED BY THE NON BITE RUTE**. A.J. VET. RES. 1966. PP. 13-16
12. CORREA G.P. **ENFERMEDADES VIRALES DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS (MONOGÁSTRICOS)**. EDITORIAL PARADIGMA. VOL. I. QUINTA EDICIÓN. 1981. PP. 149-177
13. CORREA G.P. **ENFERMEDADES VIRALES DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS (POLIGÁSTRICOS)**. EDITORIAL PARADIGMA. VOL. II. QUINTA EDICIÓN. 1988. PP. 5-33
14. FLORES G.R. **LA RABIA. LOS MURCIÉLAGOS Y EL CONTROL DE LOS HEMATÓFAGOS**. CIENCIA VETERINARIA. VOL. II EDITORIAL MORENO CHAN. UNAM. PRIMERA EDICIÓN 1987. PP. 37-67

15. GARCÍA V.Z. **EPIDEMIOLOGÍA VETERINARIA Y SALUD ANIMAL**. EDITORIAL LIMUSA. PRIMERA EDICIÓN. 1990. PP. 11-193
16. HUMMELER, K. AND KOPROWSKI. H. **INVESTIGATING THE RABIES VIRUS**. NATURE. (LOND.) 1969. PP. 221-418
17. HUTYRA. MAREK Y COLS. **PATOLOGÍA Y TERAPÉUTICA ESPECIAL DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS**. EDITORIAL LABOR. 1986 PP. 401-429
18. JAWEST E. Y COLS. **MANUAL DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA**. EL MANUAL MODERNO 1973. PP. 683-703
19. JOYCE B.J. **EL MARAVILLOSO MUNDO DE LOS PERROS**. EDITORIAL PORRÚA 1974. PP. 1-38
20. KAPLAN M.H. Y KOPROWSKI H. **TÉCNICAS DE LABORATORIO**. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 1976. PP. 19-173
21. LANDES J.H. **NOCIONES PRÁCTICAS DE EPIDEMIOLOGÍA**. 8ª EDICIÓN. LA PRENSA MÉDICA MEXICANA 1984. PP. 10-11
22. LOZA R.E., AGUILAR S.A. **ANTICUERPOS MONOCLONALES EN RABIA**. PANORAMA GENERAL. BOLETÍN INFORMATIVO. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES Y AGROPECUARIAS. ENERO 1995.

23. LOZA R.E., MEJÍA S.P. **VIOLÓN CON UN ANTÍGENO DE VIRUS RÁBICO CONCENTRADO PARA LA TÉCNICA DE INMUNOELECTROFORESIS POR CONTRACORRIENTE.** BOLETÍN INFORMATIVO. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES PECUARIAS. 1993.
24. MACÍAS M. **COMPORTAMIENTO ESTACIONAL DE RABIA EN EL ESTADO DE JALISCO, PERIODO 1970-1990.** TESIS PROFESIONAL F.M.V.Z. UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. 1990.
25. MEJÍA S.P. **IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS DE LA RABIA MEDIANTE LA TÉCNICA DE ANTICUERPOS FLUORESCENTES EN CORTES DE PIEL EN CANINOS INFECTADOS EN FORMA NATURAL.** TESIS PROFESIONAL F.M.V.Z. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO. 1987.
26. MOHANTY S.B. Y DUTTA S.H. **VIROLOGÍA VETERINARIA.** EDITORIAL INTERAMERICANA. PRIMERA EDICIÓN. 1988. PP. 238-244.
27. ROVOZZO G.C., BURKE C.N. **MANUAL OF BASIC VIROLOGICAL TECHNIQUES.** PRENTICE HALL ENGLEWOOD CLIFFS. N.Y. 1973. PP. 55-75
28. SARH. **ARCHIVOS DE LA CAMPAÑA CONTRA EL DERRIENGUE. RECIBIDOS EN EL PERIODO 1970-1990.** GUADALAJARA, JALISCO.

29. SECRETARÍA DE SALUD Y BIENESTAR SOCIAL. **ARCHIVOS DE LA SECCIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA. DIAGNOSIS OF ANIMAL HEALTH IN THE AMÉRICAS.** ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. 1983. PP. 109-113
30. SECRETARÍA DE SALUD Y BIENESTAR SOCIAL. **ARCHIVOS DE LA SECCIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA. INFORME SEMANAL.** 1992. PP. 9
31. SUREAU P., ARELLANO C. **EPIZOOTIOLOGÍA DE LA RABIA PARALÍTICA BOVINA.** CONGRESO MUNDIAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA. MÉXICO D.F. 1971. PP. 28-30
32. TIERKEL E.S. **RABIA CANINA.** LA PRENSA MÉDICA MEXICANA S.A. 1982. PP. 33-34
33. TURNER C.R. **HIGIENE DEL INDIVIDUO Y LA COMUNIDAD.** LA PRENSA MÉDICA MEXICANA S.A. 1985. PP. 405-405
34. VAUGHN J.B. **RABIA EN LOS GATOS.** LA PRENSA MÉDICA MEXICANA S.A. 1982. PP. 52
35. VILCHIS V. **EPIDEMIOLOGÍA DE LA RABIA EN MÉXICO.** SALUD PÚBLICA EN MÉXICO. 1981. PP. 407-418
36. VILCHIS V. **FUNDAMENTOS Y CRITERIOS PARA LA APLICACIÓN DE ESQUEMAS ANTIRRÁBICOS PREEXPOSICIÓN.** SIMPOSIUM: LA ATENCIÓN MÉDICA DE LAS PERSONAS INVOLUCRADAS EN UN INCIDENTE DE RABIA. 1978
37. VOIGH A., KLEINER F.D. **ZOONOSIS.** EDITORIAL ACRIBIA, ZARAGOZA. 1975. PP. 252-256