

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**"ESTUDIO DE LA PATOGENIA DE LA RABIA
EN PERROS AFECTADOS NATURALMENTE"**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PRESENTA

DAVID AVILA FIGUEROA

Guadalajara, Jalisco, 1982.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Expediente

Número301.....

P. MVZ. DAVID AVILA FIGUEROA.
P R E S E N T E.

En contestación a su atenta solicitud de fecha Enero 30 próximo pasado, en la que solicita la aprobación de su Tema de tesis titulado:

"ESTUDIO DE LA PATOGENIA DE LA RABIA EN PERROS
AFECTADOS NATURALMENTE".

se hace de su conocimiento que la Comisión de Tesis ha emitido el siguiente Dictamen:

SE ACEPTA TEMA Y ASESOR PROPUESTOS".

SE le comunica lo anterior para los fines consiguientes.

A T E N T A M E N T E.

"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., Marzo 11 de 1982.

EL DIRECTOR

M.V.Z. RODOLFO JAVIER BARBA LOPEZ

EL SECRETARIO

M.V.Z. JOSE DE JESUS CASTAÑEDA SANDOVAL.

A MIS PADRES:

**Domingo Avila Gómez y
Ma. de Jesus Figueroa de A.**

"POR SU BUENA VOLUNTAD"

A MIS HERMANOS:

**Carmen
Arturo
Domingo
Leticia
Lourdes
J. Jesus
J. Jaime
J. Pablo**

"PARA QUIENES DESEO LO MEJOR"

A Maria Concepción M.N.

"POR SU BONDAD Y CARINO"

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

A MI ASESOR:

M.V.Z. Mario A. Martell Delgado

"POR SU CONFIANZA Y CALIDAD HUMANA"

A MIS COMPANEROS Y AMIGOS

DEL DEPTO. DE EPIZOOTIOLOGIA DEL INIP.

A LOS DOCTORES:

Carlos Rosales O.

Diodoro Batalla C. y

Samuel Mercado S.

"POR LA ORIENTACION Y EL
APOYO QUE ME BRINDARON"

A MI QUERIDA FACULTAD

A MIS MAESTROS Y CONDISCIPULOS

A MI HONORABLE JURADO:

PRESIDENTE: MVZ. RODOLFO J. BARBA LÓPEZ

SECRETARIO: MVZ. FABIAN UVIÑA LUNA

1er. VOCAL: MVZ. ANTONIO VÁZQUEZ ORTIZ

2do. VOCAL: MVZ. ARTURO A. LICÓN GUERRERO

3er. VOCAL: MVZ. JUAN MANUEL CARRILLO GARCÍA

C O N T E N I D O

	PAGINA
INTRODUCCION -----	1
OBJETIVOS -----	21
MATERIAL Y METODOS -----	22
RESULTADOS -----	29
DISCUSION -----	37
CONCLUSIONES -----	41
SUMARIO -----	42
BIBLIOGRAFIA -----	43

I N T R O D U C C I O N

ANTECEDENTES

La humanidad a través de su desenvolvimiento histórico, se ha visto afectada por un gran número de enfermedades zoonóticas, de entre las cuales destaca la rabia, considerada ésta como una entidad nosológica con afección del sistema nervioso, sobreviniendo la muerte en casi un 100% de los individuos que la padecen.^{10,31,33} Su antigüedad data desde hace más de 2,000 años ha sido asociada con las especies caninas. Los antiguos Griegos, Egipcios y Romanos, acuñaron el término de "perro Furioso" describiendo la enfermedad debida a causas sobrenaturales, ya que animales dóciles y amigables se volvían extremadamente viciosos y agresivos sin causa evidente, los cuales después de un comportamiento maníaco, desarrollaban convulsiones y parálisis, con lo que sobrevinía la muerte.³³ Demócrito 500 años A.C. Describió la enfermedad en perros y animales domésticos. Aristóteles 322 años A.C. escribió en su libro "Historia Natural de los Animales" (Libro 8, Capítulo 22; "Los animales sufren de la rabia, están irritables y todos ellos tienden a morder por causa de la enfermedad". Celso en el año 100 A.C. Reconoció la relación de la hidrofobia en humanos, con la rabia de los animales, recomendando cauterizar las heridas provocadas por animales rabiosos. Galeno 200 años A.C. Sugirió la resección quirúrgica del área afectada como medida terapéutica.^{10,33}

DEFINICION Y SINONIMIA

En la actualidad la rabia es reconocida en casi todo el mundo bajo los

sinónimos de: Hidrofobia, Lyssa, Rage y Tollwut, entre otros.^{64,31} Se identifica como una enfermedad infecciosa aguda, transmisible, de etiología viral y con afinidad neurotrópica, ya que los trastornos que provoca son esencialmente en el sistema nervioso.^{10,33,68}

ETIOLOGIA

Antiguamente por desconocer el agente causal de la enfermedad, se admitía que los animales podían adquirirla si se les impedía satisfacer su instinto sexual, se les diera alimentos calientes ó bien se les privara de beber agua.³¹ También se optó por llamar "virus" (del Latín = veneno) a todo aquel agente que provocaba una enfermedad, el cual no podía observarse al microscopio ó cultivarse en medios comunes para bacterias y otros microorganismos.¹⁰ No fué sino hasta 1881 en que L. Pasteur et. al. Postulará la naturaleza ultramicroscópica del virus y que posteriormente Galloway and Elford 1936, utilizando métodos de filtración, estimaran su diámetro entre 100 - 150 nm.³³

MORFOLOGIA Y QUIMICA VIRAL

La microscopía electrónica ha demostrado que el virus rabico mide entre 75 - 80 nm de diámetro, por 180 nm de longitud, tiene geometría cilíndrica con forma de bala o cono, posee una capsida de composición Ribonucleoproteica con simetría helicoidal, la cual está envuelta por una membrana glucoproteínica,^{32,74} en la que se encuentran proyecciones ó espinas superficiales que miden entre 6-8 nm de longitud.¹⁰

CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS

El virus de la rabia comparte semejanzas con el grupo de los Mixovirus.³³ Se ha clasificado dentro del género de los Lyssavirus, pertenecientes a la familia Rhabdoviridae, que son virus dotados generalmente de envoltura.³² La cepa tradicional cambió desde que Pasteur et. al. en 1881 hiciera la primera modificación de patogenicidad del virus y creara una cepa fija, por medio de pasajes intracerebrales en animales de laboratorio,³³ en consecuencia, actualmente se conocen dos tipos de cepas rabicas. Unas son las clásicas conocidas como "cepas virus de calle" aisladas de animales infectados naturalmente, que se caracterizan por tener un período de incubación prolongado y variable, lo que les da la capacidad de invadir glándulas salivales y otros órganos además del cerebro.⁴⁹ Y las otras son las "cepas fijas" a las cuales pertenece el CVS (Challenge Virus Standard) creada por L. Pasteur. Esta cepa se caracteriza por haber sido adaptada al tejido cerebral de ratones,³³ presentando un período de incubación constante y corto (de 4 - 6 días) lo que le imposibilita invadir glándulas salivales u otros órganos.²

El virus rábico posee dos antígenos principales, uno es el interno de composición nucleoproteica y el otro es el de composición glucoproteica que está en la envoltura y que es el responsable de la formación de anticuerpos neutralizantes del virus.^{2,74}

En la elaboración de vacunas, el virus puede ser concentrado y purificado mediante ultracentrifugación, absorción en gel con fosfato de aluminio y por medio de presipitación utilizando acetato de zinc o sulfato de amonio.^{1,49}

El virus puede ser cultivado in vitro en diferentes líneas celulares en las cuales forma inclusiones acidofilicas con localización citoplasmica.^{2,10}

Roux en 1887 y Calmette en 1891, demostraron que el virus en tejidos infectados, puede prolongar su viabilidad si se le preserva en glicerol.³³

El virus ha demostrado ser resistente a la desecación, a la congelación y descongelación repetidas, a soluciones ácidas y basicas con pH de 3 - 11⁴⁹ y además, se han logrado obtener pruebas positivas de inmunofluorescencia realizadas en tejidos putrefactos.⁵⁰

La inactivación del virus rábico puede llevarse a cabo por: excesiva desecación, fenol, luz solar y ultravioleta,³³ por compuestos yodados, cuaternarios de amonio, solventes de grasas como: jabón, etanol y acetona.⁴⁹

Además es muy sensible a temperaturas de pasteurización y su ácido nucleico se inactiva fácilmente con Beta-propiolactona.^{33,49}

P A T O G E N E S I S

Una vez que un individuo haya sido infectado con el virus rábico. El virus puede producir varios tipos de infección,³⁷ dependiendo de la vía de entrada, ya que se han encontrado cepas viricas que no son patógenas por las vías intramuscular I.M. y subcutanea S.C.⁴³

A) En el tipo más simple, 3 horas después de la inoculación, se observa una fase negativa; el virus logicamente esta 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, el virus se fije, y complete su ciclo en el lugar de entrada y luego haya invasión sistémica, pero sin síntomas clínicos de enfermedad.

E) Finalmente tenemos el caso en que el virus penetra e invade, afectando el sistema nervioso central, produciendo enfermedad y muerte. Este es el tipo de infección rábica más comúnmente observado en caninos,³⁷ aunque también se han dado casos de animales que después de padecer la enfermedad, se recuperan totalmente, debido a factores intrínsecos^{10,18,25,27} o como en el caso de algunos vampiros, que en forma natural crearon anticuerpos contra el virus debido a que tuvieron contactos subletales con este.²²

Algunos investigadores, segmentan la patogénesis rábica en dos fases primordiales:

1.- Fase de conducción centripeta.

2.- Fase de transporte centrifúgo.³⁹

La primera fase, se describe inmediatamente después del momento de entrada del virus al organismo, donde es adsorbido in situ y permanece durante 2 horas. Después penetra al citoplasma y se eclipsa por un período de 18 hrs. seguidamente inicia su multiplicación, primeramente en los miocitos, alcanzando su máximo a las 72 hrs.⁷ En este mismo período se ha llegado a obser-

-var viremia en algunos casos de: Hamsters, Embrion de pollo⁵⁴ y ratones.²⁶ Pero también se ha observado la viremia en la fase final de la enfermedad o cuando al enfermo rabioso se le administra cortizona.³⁶

No obstante en la generalidad de los casos, del foco inicial de replicación, el virus principia su avance por el axoplasma de los nervios periféricos.⁶⁸ En animales de laboratorio se ha determinado la velocidad del virus a razón de, 3mm por hora.^{26,49} Hasta que al fin llega al sistema nervioso central (SNC) donde se multiplica masivamente, para de ahí distribuirse en forma centrifuga,⁶⁷ con la correspondiente invasión de otros órganos y tejidos, llegando a encontrarse en : Glándula interescapular,⁶³ utero, feto, riñón, vejiga, testículo y otros órganos de murciélagos hematófagos.^{10,36,60,61,62}

En otras especies se ha identificado en: Glándula salival, gland. Lagrimal, cornea,⁵⁵ riñón, glánd. Suprarrenales, pulmón, hígado, corazón, retina, músculo esqueletico, lengua,^{5,29,52} en los folículos pilosos de piel,^{12,16,24,46,48} vejiga¹⁵ y sangre. ³⁸

Se ha observado que el virus tiene preferencia por aquellos tejidos que poseen un nivel metabólico elevado.³⁷ Lo que explica también por que se ha presentado la transmisión a nivel placentario en algunas especies como: Bovinos⁵³ y zorrillos.²⁸

La frecuencia con que se ha identificado el virus rábico, por medio de la técnica de anticuerpos fluorescentes (A.F.), en diferentes humores y tejidos, es muy variable, pero siempre sigue ciertos patrones,^{5,42,54} entre los que destaca, la marcada afinidad que tiene el virus, para con los animales jóvenes. ³⁷

PATOGENIA EN HUMANOS

De las especies animales susceptibles a la rabia, la especie humana es de las más resistentes a la enfermedad. La vía de entrada del virus se da generalmente a consecuencia de una mordedura, propinada por un animal rabioso. Aunque se han presentado casos en los que no se determinó claramente la vía de infección, en otros más, se ha llegado a deducir, que el contagio se dió por la vía respiratoria.³³

El período de incubación, oscila entre los 20 y 60 días,³³ no obstante se ha notificado que no menos del 1 % de los casos, tienen períodos de un año ó mas.¹³

Las lesiones que se llegan a presentar en ésta y otras especies son: Encefalitis y degeneración neuronal, infiltración mononuclear perineural y perivascular, además los cuerpos de negri, considerados como única lesión patognómica.³³

PATOGENIA EN CANINOS

Los caninos son muy susceptibles a la rabia, pero a la vez son más resistentes que las zorras, y desde luego, los perros jóvenes, son más susceptibles que los perros adultos. En la mayoría de los casos la transmisión se lleva a cabo por mordeduras ya sea a nivel subcutáneo ó intramuscular, pero, en ocasiones también se da por la vía digestiva.

El período de incubación, regularmente es de 3 - 8 semanas, pero al igual que en el hombre, puede haber gran variabilidad, llegando a presentarse muy corto (10 días) ó muy largo (6 meses), esto se da raramente.

Las lesiones histopatológicas del S.N.C. son: Encefalitis generalizada y desde luego los cuerpos de inclusión descritos por Adelchi Negri.¹⁰

PATOGENIA EN GATOS

Los gatos son más resistentes que los perros cuando se les inocular por vía intramuscular, pero son más susceptibles por la vía intracerebral, también en esta especie los animales jóvenes son más susceptibles a la enfermedad que los animales viejos.

El período de incubación tiene un rango de 9 a 51 días, con una media de 18 días, la duración de la enfermedad desde que presenta el primer signo clínico, varía de 1 a 8 días con un promedio de 5 días, cerca del 70% de los animales afectados, se manifiesta en forma furiosa y, en el 88% de los casos, se aísla el virus de glándula salival. El contagio también se lleva a cabo generalmente por mordedura o vía digestiva.¹⁰

PATOGENIA EN BOVINOS

Aquí, el período de incubación es de 15 a 21 días y presenta un lapso morbo de 6 a 12 días.^{44,52}

En esta especie la enfermedad también se conoce, con los nombres de: Mal de caderas bovino, rábida parestante (Argentina), "TUMBI-BABA" (Paraguay), renquera y derriengue entre otros.⁴⁵

Las lesiones son en general las mismas, pero cuando el sitio de infección es el tren posterior, la cuerda espinal presenta marcada hiperemia, neuronofagia e infiltración celular, los ganglios intervertebrales están severamente afectados.³³

C U A D R O C L I N I C O

Clinicamente en la rabia se han en contrado tres periodos - de manifestación que se identifican como:

- a).- Periodo prodromico
- b).- Periodo de excitación ó furioso
- c).- Periodo paralítico.³³

En el ser humano los tres periodos se observan regularmente mientras que en los animales, hay ocasiones que la enfermedad se presentò muy atípicamente.³³

SIGNOS EN HUMANOS

La sintomatología en el hombre, da inicio con una sensación de angustia, cefaleas, elevación de la temperatura corporal de 1 a 1.5°C, malestar gral.

Anorexia, nauseas, inflamación de la garganta, dolor e irritación en la zona de la herida, y sensaciones extrañas en la misma zona. Dura de 2 a 4 días este período, para luego pasar a la fase de excitación, la cual es marcada por el insomnio, ansiedad e incremento de nerviosismo, hiperestacia, sensibilidad a la luz y el sonido, midriasis, ptialismo, contracciones espasmódicas laringofaríngeas, tics faciales, lagrimeo, hiperpnea, aumento generalizado del tono muscular, espasmos de músculos respiratorios, y convulsiones generalizadas. En seguida pasa a la fase de parálisis, con el consecuente fallecimiento del individuo por paro cardio-respiratorio. En ocasiones la fase de excitación es muy corta y predomina la paralítica.³³

SIGNOS EN PERROS Y GATOS

En la primera fase los signos se inician con cambios de la conducta, como ocultamiento en rincones, agitación inusitada, intranquilidad, excitabilidad refleja, estimulación de vías genitourinarias, aumento de temperatura, tendencia a desgarrar ropa y deglutir objetos extraños. De 1 a 3 días después, se manifiestan los signos de la fase furiosa con: agresiones, tendencia a morder objetos extraños y al hombre, incluyendo a su dueño, ó, así mismo; presenta ptialismo, no deglute la saliva, hay alteraciones en su fonación emitiendo sonidos roncós y prolongados, por último optan por abandonar su casa recorriendo grandes distancias. La fase terminal les llega con: convulsiones generalizadas, incoordinación y parálisis de los músculos del tronco y extremidades.^{2,33}

SIGNOS EN BOVINOS

En los primeros estadios de la enfermedad, el animal se aleja del grupo presenta midriasis, pelo erizado, somnolencia, depresión, lagrimeo y catarro nasal. Los accesos de furia son raros, pueden presentar temblores musculares, inquietud, priapismo, hipersensibilidad y se ráscan ó lamen el lugar de la herida; luego se observa incoordinación y contracciones tónico-clónicas de los músculos del cuello, torax y extremidades, hay dificultad para la deglución, dejan de rumiar,² tienen anorexia, adipsia, deshidratación, tenesmo⁵² y caen sin levantarse, hasta que les sobreviene la muerte.^{2,33}

SIGNOS EN OVICAPRINOS

Anorexia, disfagia, hiperestesia se apartan de la manada, mirada fija, actitud de alerta, aleteo auricular, constante movimiento de la cabeza, atonia ruminal, trismos, nistagmus, choque con las cosas, actitud de temor

corren sin dirección y se detienen, espasmos musculares, dificultad para caminar, incoordinación motora, postración, salivación, convulsiones, dificultad respiratoria y muerte en ocasiones con bramidos.⁵⁴

SIGNOS EN CERDOS

En esta especie la presentación es dramática, dejan de comer, presentan gran excitación, exagerada sensibilidad a los estímulos externos, ansiedad, dan vueltas en su local, chocan con las cosas, mirada perdida, dificultad para beber, salivación, parálisis faríngea, muerden las cosas o cualquier objeto móvil, tratando de atacar todo lo que tiene movimiento, muerden a sus compañeros, presentan dificultad para caminar, emiten ruidos roncós, dificultad respiratoria, se azotan, presentan convulsiones y mueren. Algunos presentan cuadros pasivos.⁵⁴

En todas las especies, es frecuente encontrar casos de rabia, con signos alternantes de excitabilidad y quietud.³³ Además, Cabe señalar que se han catalogado, tres formas de presentación de la enfermedad, basando su identificación en la sintomatología predominante; estas formas ó tipos clínicos son:

- 1.- Rabia furiosa.-Su período de excitabilidad es prolongado.
- 2.- Rabia muda ó parálitica.-asociada con los bovinos y el murciélago hematófago (vampiro)?
- 3.- Rabia abortiva.-De la que se recuperan algunos animales.

EPIDEMIOLOGIA Y EPIZOOTIOLOGIA

La rabia en el transcurso de su historia natural, se ha presentado en casi todo el mundo: En estados Unidos, Rusia, Canada, Brasil y México, entre otros. En la actualidad existen algunos países libres de la enfer-

- medad, entre los que estan: Guayana, Jamaica, Uruguay, Japón, Gran Bretaña, Países Escandinavos, Portugal, España, Oceanía, Hawaii e Islas Virgenes².

La enfermedad puede presentarse en brotes epizooticos ó en forma enzootica, sostenida por reservorios naturales pertenecientes a la fauna silvestre ó bien los mismos perros callejeros. La transmisión de la enfermedad se realiza por el contacto de heridas, con saliva infectada, casi siempre esta relacionado ese contacto con mordeduras causadas por animales rábiosos, el virus no penetra piel intacta. Más sin embargo, existen reportes^{2,49} de casos en los que la transmisión se llevó a cabo por aerosoles,⁹ por convivencia con animales aparentemente sanos¹³ ó por vía digestiva, en la que³⁰ el virus ha demostrado resistencia a los jugos gastricos por varias horas.

Epizootiologicamente se ha clasificado a la rabia en tres tipos, uno es la "rabia Urbana", otro es la "Rabia Rural" y un tercero que es la "Rabia Silvestre".

En la rabia urbana, el perro, el gato y las mascotas domesticas de origen exótico, son los principales vectores de la enfermedad para el hombre, debido a la estrecha convivencia que se ha generado.^{30,51}

La Rabia Rural, que está relacionada con las comunidades campesinas, tiene como principal reservorio y vector de la enfermedad, a la fauna silvestre, que llega a provocar grandes epizootias, para el hombre y sus animales domesticos, cuando registra movimientos poblacionales cualitativos y/o cuantitativos.^{2,16}

La r bia silvestre, en nuestro país y en los de el resto de Latino mrica está asociada con el murciélago hematófago (vampiro). Este tipo de r bia algunos autores la llaman " R bia Rural".²

La referencia más antigua de r bia en nuestro país, se encuentra en los anales de la santa inquisición en el año de 1709 (Vilchis 1974)⁷²

Entre 1971 - 1976 sólo se vacunó el 10 % de la población canina y se eliminó el 2 % . En este periodo se aplicaron 232, 633 tratamientos antirr bicos completos a humanos y 6, 220 645 incompletos. En este lapso el promedio anual de defunciones humanas a causa de r bia fue de 70 (S.S.A. - S.A.R.H.).⁶⁶

En el mismo intervalo el gasto de los centros antirr bicos por año, ascendió a 21, 023, 156. 60 \$ incluyendo captura de los animales, alimentación, sacrificio, eliminación de cadáveres, diagnóstico de laboratorio y sueldos de personal, no se consideraron en este presupuesto: Instalaciones, vehículos, equipo y material.⁶⁶

Entre 1972 - 1976 se diagn sticaron 16, 245 perros positivos a r bia, por la S.S.A. Además de que se ha reportado r bia en ratas domésticas, ratas blancas y conejos. (S.S.A. S.A.R.H. 1979).⁶⁶

D I A G N O S T I C O

La r bia debe diferenciarse de algunas otras encefalitis, con las que podrá confundirse,³³ por lo que el diagnóstico clínico es muy limitado

e inseguro. Lo recomendable es la utilización de los laboratorios como medida de confiabilidad. Los métodos que ahí se utilizan, son basados en la búsqueda de los siguientes elementos de diagnóstico :

1.- Búsqueda de Anticuerpos presentes en: Suero, líquido cerebro-espinal (L.C.E.) y tejido cerebral.

2.- Búsqueda de antígeno y partículas virales infecciosas 2,10,17,49

La ventaja que poseen estos métodos, es que en ocasiones el diagnóstico puede llegar a realizarse sin la necesidad de que el animal muera.¹⁷

El método para buscar anticuerpos, consiste en hacer pruebas de suero-neutralización y de inhibición de focos inmunofluorescentes, obteniéndose así una significancia de la infección.^{17,49}

El hallazgo de antígeno y partículas virales infecciosas, se hace:

a.- mediante el aislamiento del virus, ya sea infectando cultivos celulares ó por inoculación en ratones de 21 días de edad I.C.^{10,49}

b.- Por un examen histopatológico, basado en la observación de los cuerpos de negri, descritos en 1901 y considerados como única lesión patognómica.¹⁰

c.- Por la prueba de Inmunoabsorbencia enzimática (ELISA).⁷³

d.- Mediante las técnicas de tinción con inmunofluorescencia ó con inmunoperoxidasa.⁴⁹

Estas últimas pruebas de tinción son muy sensibles y específicas, sin embargo, la mas fácil de aprender y ejecutar es la de inmunofluorescencia,

que consiste en la utilización de un conjugado de anticuerpos marcados con colorante fluorescente (isotiocinato de fluoresceína), los cuales reaccionan con el antígeno específico, y ante la luz ultravioleta proporcionan una fluorescencia de color verde manzana o amarilla.^{10,17,49}

Por otro lado la única ventaja que tiene la tinción con inmunoperoxidasa, es que no se necesita el microscopio de luz ultravioleta.¹⁷ Estas dos pruebas de identificación, se recomienda aplicarlas al tejido encefálico, sin embargo, en la actualidad también se están utilizando impresiones corneales, raspados de mucosa lingual y biopsias de tejido bulbar cercano al cerebro, buscando plexos de nervios infectados en folículos pilosos. Se ha comprobado que la vacunación previa, no afecta el diagnóstico ya que no nos muestra falsos positivos.¹⁹ Además también se ha demostrado que se puede observar la fluorescencia 4 días antes de los síntomas, pero sin embargo, el grado más elevado de seguridad es cuando el animal muestra los signos clínicos.^{12,20}

Novedosamente también se ha venido aplicando una técnica de tinción con anticuerpos fluorescentes (A.F.) a tejidos que previamente fueron fijados en formaldehído y/o incluidos en parafina.^{23,59,47} Esta técnica ha dado altos porcentajes de confiabilidad y representa una considerable disminución del riesgo de infección en el momento de efectuar el diagnóstico.³⁸

Actualmente el uso de anticuerpos monoclonales han reforzado la efectividad del diagnóstico ayudándonos inclusive ha diferenciar, las diferentes cepas de virus rábico⁶⁹ mediante la especificidad a los determinantes antigénicos de las proteínas de nucleocápside³ y glucoproteínas.⁴

Aunque se ha logrado la observación de inmunofluorescencia positiva en un elevado porcentaje de casos, en que los tejidos se encontraban en estado de putrefacción, no significa esto que las muestras observadas negativamente, justifiquen la no vacunación profiláctica a las personas expuestas, ya que estadísticamente no existen resultados que den una --
confiabilidad del 100 % ⁵⁰.

T R A T A M I E N T O

Una vez presentados los primeros síntomas nerviosos, el tratamiento que puede aplicarse es inespecífico y casi inútil; Se basa principalmente en la administración de barbitúricos y fenotiazínicos, no se recomienda la aplicación de morfina, por que en ocasiones puede llegar a incrementar la excitabilidad, empeorando la situación del enfermo.³³

El tratamiento idóneo es aquel que se aplica inmediatamente después de que se llevó a cabo la infección.^{2,33}

Una vez que se ha tenido el contacto, son dos los tipos de tratamiento:

El primero de ellos es local y consiste en los siguientes pasos:

- a) Lavar inmediatamente la herida con agua y jabón detergente.
- b) Aplicación de desinfectantes tales como: Alcohol de 40-70 %, tintura de yodo, alcohol yodado y cuaternarios de amonio al 0.1 %.
- c) Si se cuenta con suero hiperinmune, una parte debe instilarse sobre la herida, y la otra debe inyectarse infiltrando alderredor de ésta.²

El segundo tratamiento es sistémico, y consiste en la administración combinada de vacuna y suero; El suero solo debe administrarse una vez por

vía intramuscular, la vacuna debe administrarse inmediatamente y hasta concluir el tratamiento recomendado. Además después se aplicaran dosis - de refuerzo, 10, 20 y 90 días subsiguientes a la terminación del tratamiento inicial.² Ultimamente se ha estado empleando el interferon como - complemento a las personas tratadas, de las que algunas se han salvado.⁷⁰

PREVENCION Y CONTROL

Antiguamente antes que existiera la vacunación antirrábica, la única medida que se tomaba contra la enfermedad, era la eliminación de los animales afectados y la cuarentena de aquellos con los que hayan tenido contacto.³³

Las suspensiones de tejido infectado con rabia, inactivadas con medios físicos ó químicos, dieron como resultado la creación de las vacunas; La primer vacuna inmunizante para perros y humanos, fué la creada por L. Pasteur en 1884 inactivando al virus por desecación. Mas tarde Fermi en 1908 y Semple en 1911, modificaron los métodos utilizados por Pasteur, utilizando para la creación de la vacuna, un tratamiento químico a base de fenol.³³ Actualmente para la inactivación de vacunas se utilizan algunos elementos como: El calor, la luz ultravioleta y la B - propiolactona; está muy generalizado el uso de vacunas inactivadas, pero también existen vacunas de virus vivo modificado, obtenidas mediante pases de adaptación, bajando así la patogenicidad del virus.^{33,66}

Existen tres tipos de vacuna antirrábica, clasificados de acuerdo al

medio utilizado para su obtención, estas son:⁴⁰

- 1.- Vacunas preparadas en tejido nervioso.
- 2.- Vacunas avianizadas.
- 3.- Vacunas elaboradas en cultivos celulares, tanto de origen animal⁸ como de humano.^{66,75}

Las dos primeras pueden provocar reacciones encefalíticas, cuando son obtenidas a partir de animales adultos. Esto es debido a la presencia de mielina en el tejido nervioso de ellos; Para eliminar la posible reacción cruzada que esto representa, se optó por utilizar animales lactantes, ya que estos carecen de la sustancia en cuestión.⁶⁶

De las vacunas con virus activo modificado, tenemos a:

La vacuna cepa ERA, elaborada actualmente en cultivos celulares, y recomendada para la inmunización de: perros, gatos, bovinos y por vía oral a zorras y otros carnívoros silvestres.^{21,57}

La vacuna cepa ACATLAN V-319, que también es elaborada en cultivos celulares, ésta, un mes después de su aplicación, induce niveles adecuados de anticuerpos, se recomienda para ser utilizada en: Bovinos, cabras, caballos, cerdos, perros, gatos y conejos.⁴¹ Pero se contraíndica en cuyes y hamsters, ya que aparte de no conferirles una inmunidad adecuada, les puede llegar a provocar la enfermedad.⁶⁵

La vacuna cepa FLURY, es elaborada en embrión de pollo, de esta se tienen dos variedades; Una es la FLURY HEP (de alto pasaje), y la otra es la FLURY LEP (de bajo pasaje). La HEP, confiere algunas veces un nivel de anticuerpos muy bajo, mientras que la LEP, aunque llega a inducir altos niveles de anticuerpos, es muy riesgosa, por que ha llegado a provocar

la enfermedad en algunas especies.^{2,66}

En la inmunización de humanos la OMS recomienda exclusivamente el uso de vacunas inactivadas, como; la vacuna FUENZALIDA, que es elaborada en cerebro de ratón lactante, inactivada con luz ultravioleta y recomendada para la profilaxis en pre y post-exposiciones. Para su elaboración se utilizan tres cepas de virus fijo; una es el CVS., otra es la cepa 51 de origen canino, y por último, la cepa 91 de Origen humano.² En la actualidad se están utilizando cultivos de células diploides humanas, para la producción de vacuna tipo FUENZALIDA.⁶⁶

Es importante recordar, que la utilización de vacunas en humanos, debe ser estrictamente controlada, ya que la aplicación de tratamientos vacunales innecesarios, pueden traer graves consecuencias fisiológicas, llegando en ocasiones a provocar la muerte del individuo.^{2,10,33}

C O N T R O L

Para el control de la rabia urbana, se debe procurar la disminución de los perros callejeros (sin dueño aparente)⁷¹, así como la inmunización de estos y demás mascotas, que representan el más importante reservorio de la enfermedad para el hombre.⁷⁰

En la rabia de las comunidades rurales, se sugiere estrecha vigilancia sanitaria, vacunación de animales domésticos. Estudios recientes, han demostrado que es posible la vacunación por vía²¹ oral y entérica⁵⁸ utilizando en carnívoros silvestres, mediante la aplicación de cebos, con vacuna cepa ERA.

En la rabia de tipo silvestre (salvaje), que esta asociada con el murciélago hematófago (vampiro), se recomienda en su control la utilización de sustancias anticoagulantes, disminuyendo así la población de estos quirópteros. Además simultaneamente se deben vacunar los animales domésticos.³⁴

En México el comité de lucha contra la rabia (S.S.A., S.A.R.H.,1979) establece la aplicación de vacunas a animales transmisores como medida de prevención y control.⁶⁶

O B J E T I V O S

En el presente trabajo lo que se pretende es:

- 1.- Aportar más datos sobre la patogenia de la rabia en perros, enfocándose a relacionar el grado de infectividad (título), del tejido nervioso en sus diferentes porciones, con la distribución del virus en otros órganos y las lesiones histológicas posibles.
- 2.- Otra finalidad es la de detectar la frecuencia con que se puede identificar el virus rábico al utilizar los cortes de piel teñidos con anticuerpos fluorescentes (A.F.)
- 3.- También observaremos que correlación se puede obtener al aplicar la técnica especial del A.F. en tejidos fijados con formaldehído.

MATERIAL Y METODOS

A).- Material Biológico:

- 1.- Conjugado de Anticuerpos Fluorescentes específico para el virus rábico, elaborado en el Dpto. de Epizootiología del INIP.
- 2.- Alícuotas con suspensión de CVS. y CNR.
- 3.- Ratonos albino Suizos de 21 días de edad.
- 4.- 5 perros rábidos, infectados en forma natural.

B).- Material de Laboratorio:

- 1.- Estuche de necropsias con: Cuchillos, costotomo, tijeras y pinzas entre otros.
- 2.- Jeringas para insulina de 1 ml.
- 3.- Microscopios; compuesto y de luz Ultravioleta.
- 4.- Material necesario para estudios histopatológicos que incluye: Microtomos, para cortes en parafina y por congelación, porta y cubre - objetos, entre otros.
- 5.- Congeladores de -20 °C.
- 6.- Estufa de incubación a 37 °C.
- 7.- Pipetas.
- 8.- Tubos de ensayo.
- 9.- Vasos de Copli.
- 10.-Cajas de Petri.
- 11.-Morteros.
- 12.-Acetona
- 13.-Solución de tripsina al 0.25% en HBSS, pH 7.8 con .02% de $Ca Cl_2$.
- 14.-Agua buferada pH 7.6
- 15.-Solución fosfatada de albumina bovina fracción V (BAPS).
- 16.-Solución fosfato buferada (PBS) pH 7.5 .
- 17.-Solución de formaldehído buferado pH 7.4 .
- 18.-Azul de Evans al 1 % .

M E T O D O L O G I A

Se utilizaron 5 perros naturalmente afectados y muertos por el virus rábico, fueron obtenidos del centro antirrábico de Culhuacán y de la Unidad Central del INIP Palo Alto D.F., con sus respectivos datos clínicos. A estos perros se les tomaron muestras de diferentes regiones del sistema nervioso central (cuadro 1), de varias zonas de la piel (cuadro 2) y de la mayoría de órganos internos (cuadro 3).

Estas muestras fueron trabajadas de la siguiente manera;

Primero se destinó un trozo de cada una de ellas para realizar cortes en parafina, efectuando así un examen histológico, mediante la técnica de tinción de Hematoxilina y Eosina (H - E).

Enseguida en los otros trozos, se realizaron cortes por congelación a 4 μ aplicándoles la técnica rutinaria de inmunofluorescencia directa para demostrar la presencia del virus rábico en ellas. A las muestras que resultaron positivas, se les fijó en formaldehído al 10% pH 7.4 durante una semana, después de lo cual, les aplicamos la técnica especial de inmunofluorescencia recomendada por D.C. Blenden (cuadro 4).

De las muestras tomadas del S.N.C. y Glándula Salival, una porción fue destinada para la elaboración de suspensiones al 20% en BAPS. A partir de estas se hicieron diluciones que iban de 10^1 a 10^6 , inoculando cada dilución en 6 ratones de 21 días de edad, con una dosis de 0.03 ml por la vía intracerebral I.C. Al cabo de 30 días, se obtuvo el título del virus haciendo el cálculo mediante la técnica de Reed y Muench.

DATOS CLINICOS GENERALES

Perro N°1 Edad: 10 meses aprox. Raza: Criollo. Sexo: Hermafrodita.
Talla: Mediana. Color: Gris.

Anamnesis.- Perro callejero, capturado y llevado al INIP Unidad Central, para su observacion. Murió al 3° día.

Signos.- Presentaba, parálisis de mandíbula, ptialismo, anisocordia y una actitud temerosa.

Perro N°2 Edad: 4 meses. Raza: Criollo. Sexo: Hembra, Talla: Mediana.

Anamnesis.- Perro callejero, capturado por el centro antirrábico de Culhuacan y puesto en observación, murió al 3° día.

Signos.- Agresividad hasta el 2° día, Glosoparesia, Inquietud, midriasis, parálisis gral. y facial, aullido característico, conjuntivitis y res. de nariz.

Perro N°3 Edad: 3 meses. Raza: Criollo. Sexo: Macho. Talla: Chica.

Anamnesis.- Los propietarios al verlo enfermo lo echaron a la calle.

Signos.- Presentaba agresividad, inquietud, midriasis, res. de nariz y ligera incoordinación.

Perro N°4 Edad: 1 año. Raza: Pastor Al. Sexo: Hembra. Talla: Grande.

Anamnesis.- Vacunada en Junio de 1981, no comía ni bebía, no agresiva y se encontraba lactando, (cachorros todos sanos).

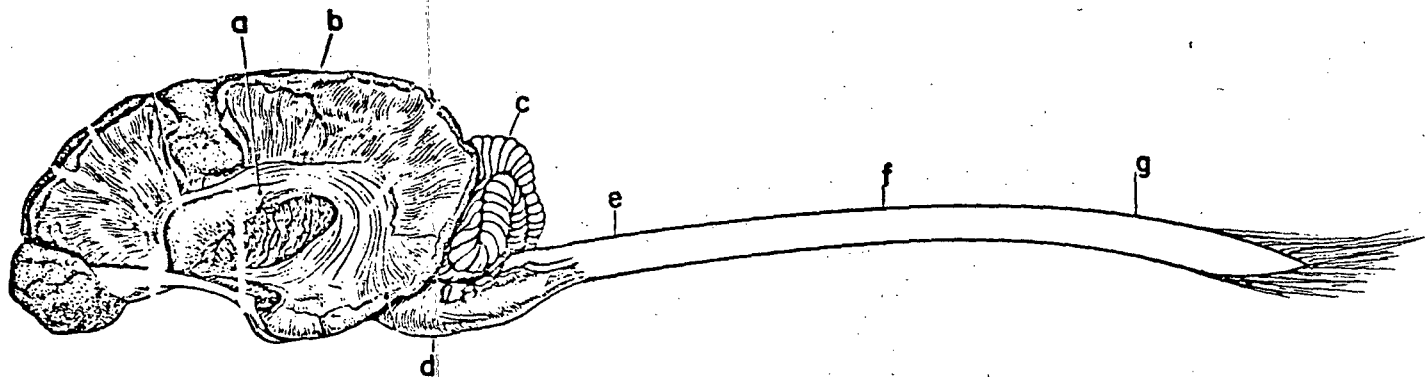
Signos.- Glosoparesia, inquietud, midriasis, cianosis, parálisis gral y facial, conjuntivitis, res. de nariz y anisocordia.

Perro N°5 Edad: 2 años, Raza: Boxer. Sexo: Hembra. Talla: mediana.

Anamnesis.- No mordió a personas, no estaba vacunada, murió en 4 días.

Signos.- Tristeza y ptialismo.

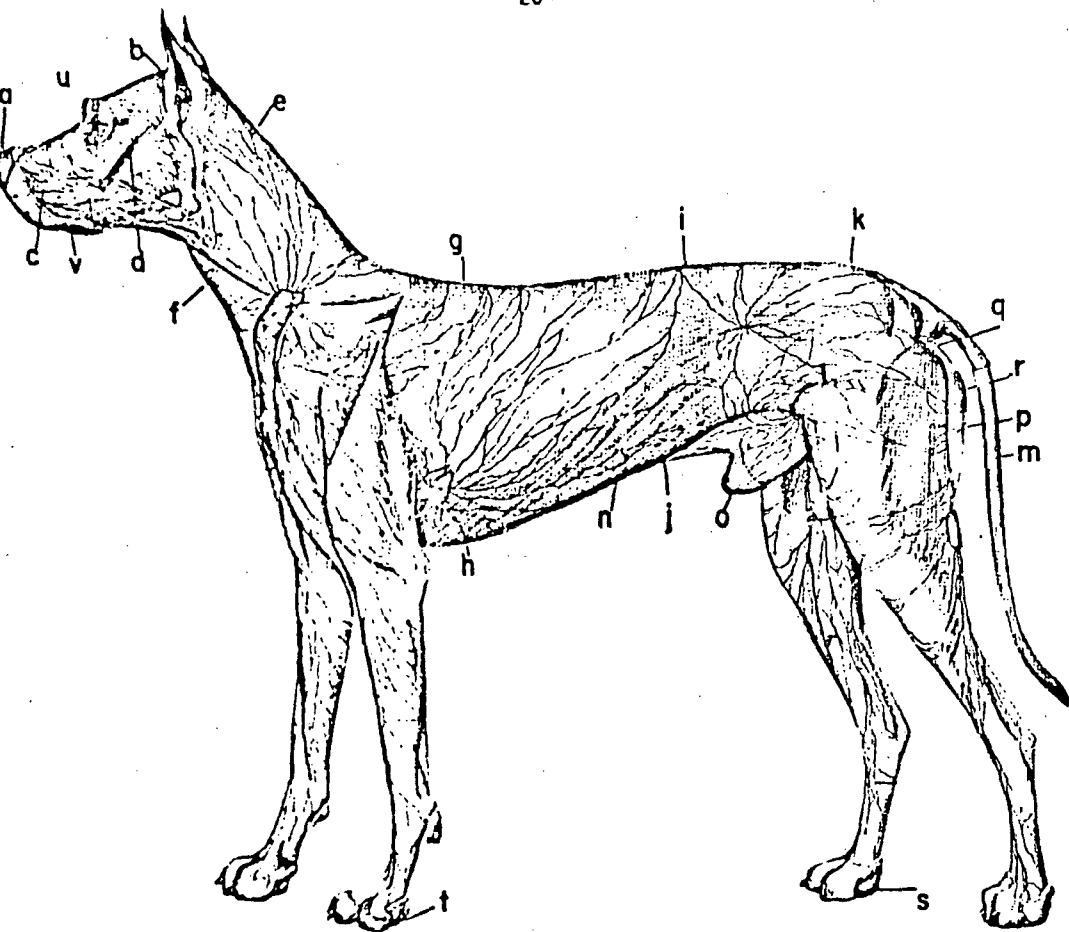
NOTA: Este último perro, fué trabajado por el centro de salud animal del INIP Unidad Central.



CUADRO N°1

REGIONES TOMADAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

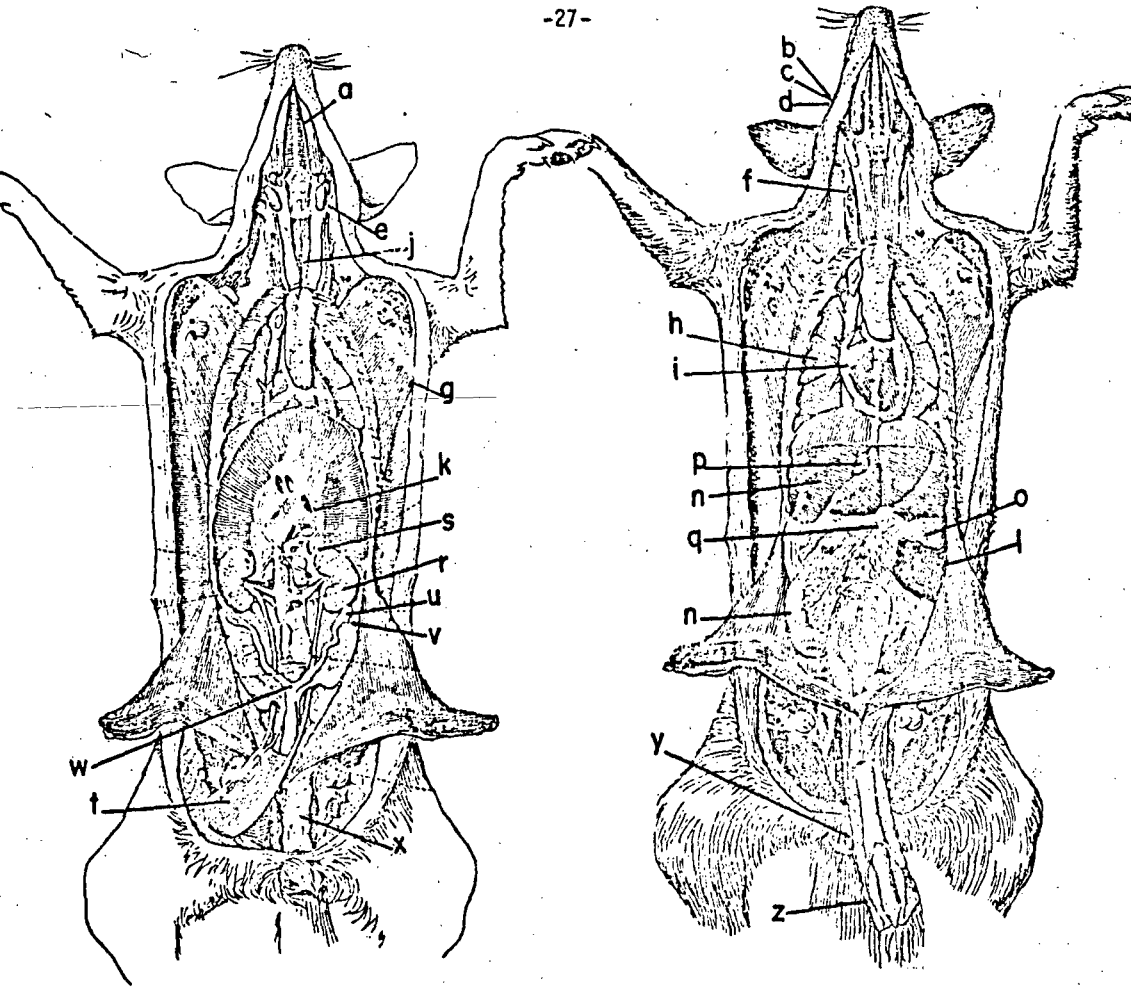
a) Tálamo, b) Corteza Cerebral, c) Cerebelo, d) Búlbo R., e) Médula Cervical, f) Médula Dorsal
Y g) Médula Lumbar.



CUADRO N°2

ZONAS DE PIEL MUESTREADAS

- a) Naríz, b) Conduc.Audit.Ext., c) Zona del Bigote, d) Zona de Mejilla,
e) De nuca, f) De cuello, g) Del dorso, h) Del pecho, i) Lumbar, j) Abdomen
k) Sacra, l) De la ingle, m) Coccix, n) De la teta, o) Prepucio, p) escroto,
q) Perineo, r) Vulva, s) Coj.Plan.Post. t) Coj.Plan.Ant. u) Parpado, y
v) Labio.



CUADRO N°3

TOMA DE MUESTRAS DE ALGUNOS ORGANOS

- a) Lengua, b) Retina, c) Cornea, d) Glând. Lagrimal, e) Glând. Salival.
f) traquea, g) Bronquios, h) Pulmón, i) Corazón, j) Esófago,
k) Estómago, l) Int. De Ig. m) Int. Grue. n) Hígado, o) Bazo,
p) V. Biliar, q) Páncreas, r) Riñón, s) Adrenal, t) Vejiga,
u) Ovario, v) Oviducto, w) Utero, x) Vagina, y) Testículo,
y z) Pene.

CUADRO N° 4

TECNICA DE TINCION DEL VIRUS RABICO CON INMUNOFUORESCENCIA EN TEJIDOS FIJADOS EN FORMOL Y DILUIDOS CON TRIPSINA.

- 1.- Muestras de tejido de 3 - 5 mm³, fijados en formol buferado pH 7.4 por un período de 3 días a 7 meses.
- 2.- se sacan las muestras de tejido del formol y se lavan con PBS al (-0.1 M pH 7.5).
- 3.- Colocar las muestras en tubos de ensayo, conteniendo tripsina al 0.25 % en HBSS pH 7.8 , con .02% de CaCl₂, por un período de una hora a 37 °C ó toda la noche a 4 °C.
- 4.- Después de la digestión con tripsina lavar las piezas con PBS.
- 5.- Realizar cortes por congelación de 4µa -20°C colocando 2 por cada porta-objeto.
- 6.- Fijar los cortes en acetona a -20°C durante 30 minutos.
- 7.- Lavar los cortes en agua Buferada pH 7.6 durante un minuto.
- 8.- Colocar los cortes en cajas de petri y cubrirlos con tripsina al .25 % durante una hora a 37°C ó por toda la noche a 4°C.
- 9.- Lavar los tejidos en PBS.
- 10.-Refijar los cortes en acetona a -20°C, durante 10 minutos.
- 11.-Sacar los cortes y secarlos al aire.
- 12.-Teñirlos con la técnica de inmunofluorescencia directa.

NOTA: A las suspensiones de CVS y CNR, que se utilizan, para absorber el conjugado de anticuerpos fluorescentes, se le agregaron 2 gotas de azul de Evans al .1 % .

R E S U L T A D O S

Al practicar la necropsia de cada uno de los animales, llegamos a encontrar en todos ellos, congestión generalizada y deshidratación, en 3 de ellos encontramos objetos indigeribles en cavidad gástrica, presentandose en uno de ellos la ruptura de la pared estomacal, también llegamos a encontrar en la mayoría de los animales, los órganos con flaccidez o consistencia friable, en dos de los perros observamos indicios de diarrea.

Las lesiones histológicas se limitan casi exclusivamente a necrosis celular, que se llegó a presentar en la mayoría de los órganos, además en algunos habia infiltración y hemorragias, en tejido nervioso siempre encontramos los corpusculos de negri, gliosis y generalmente con infiltración, necrosis y encefalomalacia.

En cuanto a los títulos que se obtuvieron de diferentes regiones del sistema nervioso y glandula salival; Se observó que los segmentos con mayor titulo de virus, fueron el tálamo y la glandula salival (cuadro 10), Tambien se mostró una marcada diferencia, de los perros 2 y 3, siendo -- el N°2-en el que se encontró el mayor promedio de título, en tanto que para el N°3, su promedio fue el menor, de los 5 perros trabajados.

La identificación del virus rábico, en cortes de diferentes zonas de la piel, por medio de la tecnica de A.F., manifestó hasta el 80% de eficiencia en regiones como la nariz, coxis y perineo. Llegó tambien a darse la mínima eficiencia del 0% en regiones como: el pecho, el sacro y el prepucio. (cuadro 7).

La identificación en los órganos, se encontró hasta con una eficiencia del 100% en: retina, cornea, testículo, pene, glándula salival y corteza cerebral; Siendo la mínima eficiencia del 20% en : Glándula lagrimal, Intestino grueso y V. Biliar (cuadro 8).

En cuanto a la técnica especial de A. F. aplicada a tejidos fijados con formalina se observó una correlación promedio del 59.6% en cortes de piel (cuadro 7). Y en los órganos la correlación fue del 60% , llegandose a observar, tanto en cortes de piel como de órganos, correlaciones que iban en algunos hasta del 100% y en otros del 0 % (cuadros 7 y 8).

CUADRO N °5

HALLAZGOS A LA NECROPSIA

Perro N°1 Estado general: Deshidratación; Presenta una congestión generalizada, Pulmones: Neumónicos; Vejiga: con poco contenido de orina; Bazo: Esplenomegalia y se encontraba flácido; Estómago: comprimido y vacío ; Intestino: sin contenido pero con indicios de diarrea.

Perro N°2 Estado general: Deshidratación; Estómago: poco contenido, había huesos sin digerir y trozos de tela; Congestión generalizada con relevancia en el Hígado que además estaba friable; Vejiga: Poco contenido de orina; Pulmón: Congestión hipostática.

Perro N°3 Estado general : Deshidratación; Congestión generalizada; Pulmones: en estado neumónico; Hígado: friable; Estómago: con una cánica y huesos pequeños sin digerir; Vejiga: poco contenido de orina.

Perro N°4 Estado general : Deshidratación; Congestión generalizada; Pulmones: neumónicos; Corazón: flácido; Riñon: flácido; Vejiga: poco contenido de orina; Estómago: vacío, indicios de diarrea.

Perro N°5 Estado general : Deshidratación; Congestión generalizada; Hígado: friable; Pulmones: neumónicos; Vejiga: poco contenido de orina; Estómago: se encontraba roto, había restos de huesos y trozos de madera.

CUADRO No. 6

CUADRO DE LESIONES HISTOLOGICAS.

- Perro No. 1 En pulmón: enfisema, edema, infiltración neutrofílica y monocitica, epitelización y fibrina. Bazo; degeneración tóxica cerebro; neuronofagia, gliosisencefalomalacia, infiltración linfocitica, perivascular, presencia de cuerpos de negri, y necrosis coagulativa.
-
- Perro No. 2 Cerebro: meningoencefalitis, infiltración lifocitaria, edema, encefalomalacia y gliosis; hígado: congestión, negrosis coagulativa; intestinos: ligera hiperemia pasiva.
-
- Perro No. 3 Cerebro: infiltración linfocitaria y gliosis. Pulmón: enfisematoso, hemorrágico, infiltración. Intestino: necrosis epitelial, enteritis e infiltración. Traquea: degeneración del epitelio. Glándula salival: necrosis coagulativa de epitelio acinar.
-
- Perro No. 4 Cerebro: cuerpos de negri, necrosis coagulativa, hemorragias, infiltración de mononucleares. Pulmón edema, epitalización hemorragias, atelectasis, infiltración de mononucleares y segmentados. Riñón: necrosis coagulativa de epitelio tubular. corazón necrosis coagulativa. bazo: degeneración tóxica pancreas: degeneración de epitelio acinar.
-
- Perro No. 5 Cerebro: gliosis, encefalomalacia infiltración linfocitaria y necrosis coagulativa. Hígado: necrosis coagulativa y congestión. Pulmón: hemorragias, enfisema, epitalización, infiltraciones y depósitos de fibrina. Corazón necrosis coagulativa, pancreas de generación de epitelio acinar, riñón: necrosis: intestino: hemorragias infiltración necrosis.
-

CUADRO N°7

RESULTADOS OBTENIDOS CON LA TECNICA DE A.F. EN CORTES DE PIEL.

Organo	Perro N°1		Perro N°2		Perro N°3		Perro N°4		Perro N°5		%	
	N	F	N	F	N	F	N	F	N	F	N	F
Nariz	+	+	+	+	-		+	-	+	-	80%	50%
Conduc. Aud. Ext.	-		-		-		-		+	-	20%	0%
Zona de Bigote	+	-	+	+	-		-		-		40%	50%
Zona de mejilla	-		+	-	+	-	-		-		40%	0%
De nuca	+	-	+	+	+	+	-		-		60%	66.6%
De cuello	-		+	-	+	-	-		-		40%	0%
Del dorso	+	+	-		-		-		-		20%	100%
del pecho	-		-		-		-		-		0%	
Lumbar	-		-		-		+	-	-		20%	0%
de Abdomen	+	-	-		+	-	-		-		40%	0%
Sacra	-		-		-		-		-		0%	
de la ingle	+	-	-		-		+	+	-		40%	50%
del coccix	+	+	+	+	+	+	+	+	-		80%	100%
de la teta	-		+	-	-		+	+	-		40%	50%
del prepucio	-		NO		-		NO		NO		0%	
del escroto	-		NO		+	+	NO		NO		50%	100%
del perineo	+	+	+	+	+	+	+	+	-		80%	100%
de la vulva	+	+	+	-	NO		+	+	-		75%	66.6%
Coj. Plan. Post.	-		+	+	-		-		+	+	40%	100%
Coj. Plan. Ant.	+	-	+	+	-		-		+	+	60%	66.6%
Parpado	-		+	+	+	+	-		-		40%	100%
Labio	+	+	+	+	-		-		+	+	60%	100%

\bar{x}

42% 59.6%

* N = Tejido fresco.

F = Tejido fijado con formol.

CUADRO N°8

RESULTADOS OBTENIDOS CON LA TECNICA DE A.F. EN CORTES DE ORGANOS.

Organo	Perro N°1		Perro N°2		Perro N°3		Perro N°4		Perro N°5		%	
	* N	F	N	F	N	F	N	F	N	F	N	F
Lengua	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	80%	75%
Retina	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	100%	60%
Cornea	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	100%	50%
Gland.Lagrimal	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	20%	0%
Gland.Salival	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	100%	80%
Traquea	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	60%	66.6%
Bronquios	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	40%	0%
Pulmón	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	40%	50%
Corazón	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	60%	66.6%
Esófago	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	80%	75%
Estómago	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	80%	75%
Int. Delgado	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	40%	50%
Int. Grueso	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	20%	0%
Hígado	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	40%	100%
V. Biliar	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	20%	0%
Pancreas	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	40%	0%
Bazo	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	60%	100%
Riñón	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	40%	50%
Adrenal	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	60%	66.6%
Vejiga	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	60%	66.6%
Ovario	-	-	+	+	NO	-	+	+	+	+	75%	100%
Oviducto	-	-	-	-	NO	-	-	-	+	-	25%	0%
Utero	-	-	+	+	NO	-	+	-	+	+	75%	66.6%
Vagina	+	+	+	+	NO	-	+	+	-	-	75%	100%
Testículo	+	+	NO	-	+	+	NO	-	NO	-	100%	100%
Pene	+	+	NO	-	+	+	NO	-	NO	-	100%	100%
Corteza C.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%	100%

* N = Tejido fresco

F = Tejido fijado con formól.

62.5% 60% X

CUADRO N°9

PORCENTAJE TOTAL, DE TEJIDOS POSITIVOS A LA PRUEBA DE A.F. EN CADA PERRO.

	N°de Cortes		Positivos piel		Positivos órganos		Total posi. % total tivos		% total	
	* N	F	N	F	N	F	N	F	N	F
Perro N°1	49	28	11	6	17	17	28	23	57.2	82.1%
Perro N°2	45	28	13	9	15	11	28	20	62.2	71.4%
Perro N°3	44	21	8	5	13	8	21	13	47.7	61.9%
Perro N°4	45	21	7	2	14	9	21	11	46.6	52.3%
Perro N°5	45	22	5	3	17	12	22	15	48.8	68.1%
TOTALES	228	120	44	25	76	57	120	82	52.6	68.3%

CUADRO N°10

TITULO DE VIRUS OBTENIDO EN DIFERENTES REGIONES DEL S.N.C. Y GLAND. SALIVAL.

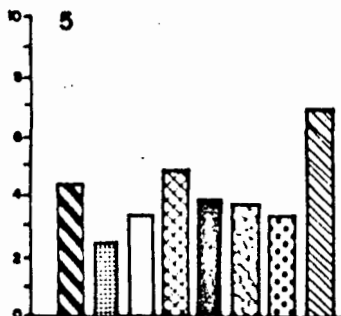
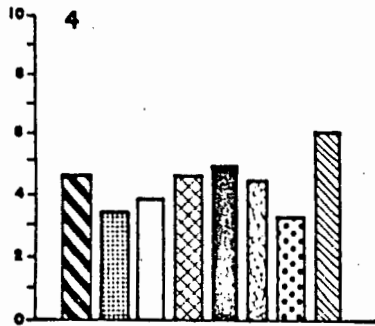
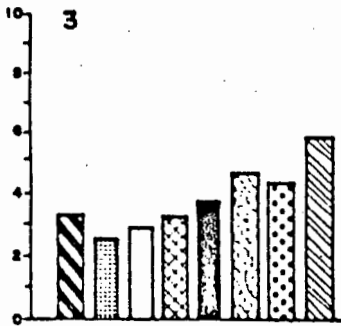
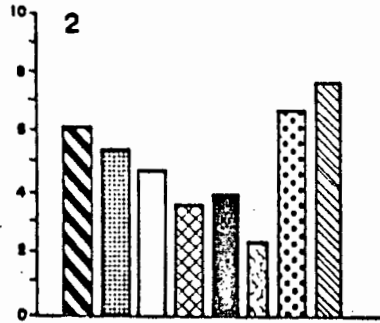
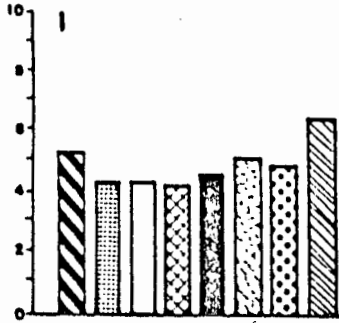
	Perro N°1	Perro N°2	Perro N°3	Perro N°4	Perro N°5	\bar{X}
TALAMO	$10^{5.3}$	$10^{6.1}$	$10^{3.2}$	$10^{4.7}$	$10^{4.3}$	$10^{4.7}$
CORTEZA C.	$10^{4.3}$	$10^{5.4}$	$10^{2.6}$	$10^{3.3}$	$10^{2.6}$	$10^{3.6}$
CEREBELO	$10^{4.3}$	$10^{4.6}$	$10^{2.7}$	$10^{3.5}$	$10^{3.1}$	$10^{3.6}$
BULBO R.	$10^{4.2}$	$10^{3.4}$	$10^{2.8}$	$10^{4.3}$	$10^{4.6}$	$10^{3.8}$
M.CERVICAL	$10^{4.4}$	$10^{3.5}$	$10^{3.3}$	$10^{4.4}$	$10^{3.7}$	$10^{3.8}$
M.DORSAL	$10^{4.6}$	$10^{2.3}$	$10^{4.1}$	$10^{3.8}$	$10^{3.6}$	$10^{3.6}$
M.LUMBAR	$10^{4.5}$	$10^{6.4}$	$10^{3.8}$	$10^{2.7}$	$10^{3.4}$	$10^{4.1}$
G.SALIVAL.	$10^{6.3}$	10^7	$10^{5.4}$	$10^{5.5}$	$10^{6.5}$	$10^{6.1}$
\bar{X} =	$10^{4.7}$	$10^{4.8}$	$10^{3.4}$	10^4	$10^{3.9}$	

* N = Tejido fresco

F = Tejido fijado en formol.

GRAFICA N°1

PANORAMA GENERAL DE LOS TITULOS OBTENIDOS EN LOS PERROS TRABAJADOS.



DISCUSION

Los cambios observados al realizar el examen post-mortem, de los animales afectados de rabia y muertos en forma natural, revelan alteraciones que de alguna manera, pueden relacionarse con la forma del deceso, algunos autores, mencionan la presencia de lesiones pulmonares, producidas por invasores secundarios, habiendo aislado germen como; bordetella Spp, pasteurilla y piogenos del tipo de estreptococos y estafilococos. Por nuestra parte, la observación microscópica nos reveló cambios en el pulmón indicándonos la lesión neumónica de tipo exudativo y mixto.

En todos los casos al presentarse el clásico síndrome de deshidratación y en algunos el hallazgo de objetos extraños en estómago, demuestra la concordancia con observaciones anteriores.

El estudio microscópico, reveló alteraciones sugestivas de un problema viral, encontrando, encefalomalacia, neuronofagia, necrosis, gliosis y la observación de los corpusculos de A. Negri.

Los títulos obtenidos de diferentes regiones del S.N.C. y Glándula salival, en los 5 casos variaron de $10^{2.3}$ a 10^7 . Encontrándose una \bar{x} de $10^{4.7}$ en talamo, $10^{3.6}$ en corteza, $10^{3.6}$ en cerebelo, $10^{3.8}$ en bulbo R., $10^{3.8}$ en M.Cervical, $10^{3.6}$ en M.Dorsal, $10^{4.1}$ en M.Lumbar y $10^{6.1}$ en G.Saliv. Resultados que muestran una gran concentración viral en segmentos como, talamo y glándula salival, datos que coinciden con las observaciones hechas por otros autores. La diferencia observada en los títulos, de los diferentes segmentos del encefalo, se debe seguramente a la distribución de las áreas más ricas en neuronas. En la glándula salival, la concentración de virus, es por lo general mayor que en encefalo, dato que concuerda con otras observaciones.

El estudio de patogenia en órganos, identificando al virus por la técnica de A.F. nos da resultados positivos, demostrandonos la presencia del virus rábico, en varios tejidos, fenómeno que se ajusta a los reportes de otros investigadores, en diferentes especies. (cuadro 11).

Ya que cada caso de rabia, es un caso patogenicamente diferente y tiene una relación estrecha con el poder invasivo de la cepa en cuestión, realidad reportada con anterioridad y que se observa claramente en nuestro caso N°2 en que el perro tuvo mayor porcentaje de positividad de tejidos y mayor título de virus en S.N.C. y glándula salival.

Existe información que pone de manifiesto la presencia del virus rábico en tejido cutáneo. Los primeros trabajos se llevaron a cabo en ratones, zorras, zorrillos, perros y se esta intentando la adopción de ésta técnica en humanos. En ratones inoculados experimentalmente, la técnica tiene un alto grado de eficiencia, así como también en zorrillos, en todos los casos el diagnóstico se hace utilizando los A.F. Para teñir las fibras nerviosas infectadas, que rodean la base del folículo piloso, en otras ocasiones se utilizan cortes de tejido de áreas de gran inervación, como en labios y cojinete plantar, en este último la tinción revelaba la presencia de células epiteliales con corpúsculos intracitoplasmáticos aparentes (Murphy 1980)

Al aportar nosotros información nueva, sobre la detección de virus rábico en diferentes porciones de piel en perros afectados y muertos naturalmente, se puso de manifiesto la utilidad de la piel como muestra para diagnóstico, por la técnica de A.F. en cortes por congelación, sin embargo

del total de muestras trabajadas, únicamente se obtuvo positividad en el 42 % de los cortes, porcentaje relativamente bajo para considerar a la piel como alternativa de diagnóstico ya que la distribución del virus en las diferentes regiones de la piel es muy irregular.

De aquellas muestras trabajadas en tejidos frescos, que resultaron positivas con la técnica de A.F., obtuvimos resultados no esperados al trabajarlas despues de haberlas fijado con formol, donde la correlación variaba del 100% en unos tejidos, mientras que en otros era del 0%, llegando a encontrar los mayores porcentajes de correlación en los cortes de órganos.

CONCLUSIONES

- 1.- Se concluye que es posible detectar el virus rábico en cortes de piel, de perros naturalmente afectados y muertos por la enfermedad.
- 2.- La distribución del virus rábico en piel, es irregular y se encuentra en estrecha relación con el poder invasivo de la cepa virica en cuestión.
- 3.- Las muestras de piel infectadas con mayor frecuencia, son las de la zona de la nariz, perineo y región coccigea proximal.
- 4.- La técnica especial de A.F. aplicada a tejidos fijados con formalina no nos da un 100% de eficiencia en muestras que no proceden del sistema nervioso, siendo esto, una limitante de gran importancia, para que se utilice como alternativa de diagnóstico.

S U M A R I O

Con el objeto de obtener más datos acerca de la patogenesis rábica, se estudiaron 5 perros naturalmente afectados y muertos por la enfermedad, a los cuales les practicamos el examen post-mortem, donde tomamos muestras de piel, de algunos órganos y de diferentes regiones del Sistema nervioso central (cuadros 1, 2 y 3).

La necropsia nos reveló frecuentemente una congestión generalizada, neumonía y deshidratación, presentandose en ocasiones diarreas y objetos extraños en estómago. Se observó microscópicamente congestión, necrosis, degeneración e infiltración en algunos órganos y en cerebro fué frecuente la malacia, neuronofagia, gliosis, los cuerpos de negri e infiltraciones. (cuadros 5 y 6).

En las muestras de piel y órganos se realizaron cortes por congelación a 4° - tiñendolos con anticuerpos fluorescentes (A.F.) Para demostrar la presencia del virus rábico en ellos. Encontrandose un promedio del 42% de identificación positiva en el total de cortes de piel y un 62.5% en los cortes procedentes de órganos. A las muestras que resultaron positivas, las fijamos en formol buferado pH 7.4 y al cabo de una semana les aplicamos la técnica de dilución con triplicina para utilizar nuevamente la tinción de A.F. obteniendo el 59.6% de positividad en cortes de piel y el 60% en cortes de órganos (cuadros 7 y 8).

De las muestras tomadas a partir del SNC y glándula salival se elaboraron suspensiones al 20% en BAPS, de las que se hicieron diluciones que iban de 10^1 a 10^6 , las cuales se inocularon en ratones de 21 días por vía I.C. con una dosis de .03 ml obteniendo el título, después de un mes haciendo el cálculo por el método de Reed y Muench. Los títulos obtenidos tuvieron los promedios de: $10^{4.7}$ en talamo, $10^{3.6}$ en corteza $10^{3.6}$ en cerebelo, $10^{3.8}$ en bulbo $10^{3.8}$ en médula cervical $10^{3.6}$ en médula dorsal $10^{4.1}$ en médula lumbar y $10^{6.1}$ en glándula salival. Lograndose detectar que el mayor promedio de título fué el del perro No.2 y que el menor título fué el del perro No. 3 (cuadro No. 10).

Pudiendose concluir que es posible identificar el virus rábico en cortes de piel y órganos que la distribución del virus es irregular y va en íntima relación con la patogenicidad de la cepa y que en los tejidos que no proceden del SNC - no puede identificarse el virus en un 100% después de que la muestra haya sido fijada en formol.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Aaslestad* Wiktor T.J. (1972) Recovery of protective activity in rabies virus vaccines concentrated and purified by four different methods. Appl - Microbiol - 24: 37 - 43.
- 2.- Acha P.N. y Szyfres B. (1977) Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales (O.M.S.)
- 3.- A. Flamand* T.J. Wiktor and (1980) H. Koprowski. Use of hybridoma monoclonal antibodies in the detection of antigenic differences between rabies and rabies - related virus proteins I. The nucleocapsid protein. J. gen. Virol. 48: 97-104.
- 4.- A. Flamand* T. J. Wiktor and (1980) H. Koprowski. Use of hybridoma monoclonal antibodies in the detection of antigenic differences between rabies and rabies-related virus proteins II. The glycoprotein. J. gen. Virol. 48: 105-109.
- 5.- Aline S. de Alhuja, Aurora (1963) Velazquez E y Fernando Galindo R. Identificación del virus rábico en diferentes tejidos celulares, mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes. Med. Vet. y Zoot. Vol. II No. 4; 149-156.
- 6.- Arko R.J.* Schneider L.G. (1973) Baer G.M. Non-Fatal canine rabies. Ann. Jour. Vet. Res. 34; 937-938.
- 7.- Atanasiu P. (1974) El virus de la rãbia; Salud Pùblica de Mèxico. V. XVI (3).
- 8.- Atanasiu P* Tsiang H. Gamet A. (1974) Nouveau vaccin antirabique humain de culture cellulaire primaire. An. Microbiol. (Inst.Pasteur)125 B;419-432.
- 9.- Atanasiu P. (1967) Patogenesis de la rãbia. 1er. Simposium de rabia para las Amèricas OPS. OMS. p. 74.
- 10.- Baer G. M. (1975) The Natural History of Rabies Academic Press. Inc. Vols. I-2.

- 11.-B.E. Hooper; D.C. Blenden (1961) Rabies in the Domestic Cat. Bol. UMC-Veterinary medicine.
and K. H. Niemeyer.
- 12.-Blenden D.C. J. W. Frost. (1980) Identification of rabies virus antigen in
Wachen Dorfer and C. Dorsey the skin of foxes, Zbl, Vet, Med, B, 27,
698-704.
- 13.-Center for Disease control (1976) Caso humano de rabia en California. Boletín Zoonosis. CPZ. Vol. XVIII No. 1-2 P. 51.
- 14.-Clinical Item. (1972). Recovery of Pigs from rubies J.A.V.M.A. Vol. 160 No. 8 1127-1128.
- 15.-D. Batalla G. Baer, L. Limon(1979) Estudio de la Patogenia del virus rabico en un caso en humano.
D. González y D. Oros. Resumenes de la reunión anual I.NI.P. S.A. R.H. P. 13
- 16.-D.C. Blenden (1979) Summary of results of immunofluorescence Staining on skin and brain taken at all stages of infection: A blind study on multiple species. CDC. Rabies information exchange - No. 1
- 17.-D.C. Blenden (1981) Comunicación personal.
- 18.-D.C. Blenden and E.B. Breits(1980) Recovery of a dog.
chwedt. From an experimental rabies infection CDC. Rabies information exchange, No. 2
- 19.-D.C. Blenden and J.F. Bell (1979) Effect of administration of various vaccines on rabies skin positivity in mice; compilation of three blind coded experiments. CDC. Rabies information exchange No. 1
- 20.- D.C. Blenden and J.F. Bell (1979) Time of appearance of rabies virus antigen in nerves of the skin of experimentally infected mice; A composite of blind-coded. Experiments using several virus Isolates and routes of inoculation CDC. rabies inf. exchange No. 1.
- 21.-Debbie J.G. (1974) Use of inoculated eggs as a vehicle for the oral rabies vaccination of red foxes(vulpes fulva). Infect. Immun. 9: 681-683.
- 22.-Delpietro, H. Diaz A.M.O. (1973) Determinación de la tasa de ataque de rabia en murciélagos. Boletín. Zoonosis. CPZ. Vol XV No. 1 49-50.
Defuenzalida E, Bell J.F.

- 23.- Department of health, Educa(1980) tion and Welfare. Fluorescent antibody staining of trypsin Digested tissue section CDC. (Manuscrito).
- 24.- Donald C. Blenden (1981) Rabies in a litter of skunks predicted and diagnosed by skin biopsy. Jour Am. Vet. Med. Ass. Vol. 179 No. 8 784-791.
- 25.- Donald C. Blenden (1981) Nonfatal rabies in the dog. J.A.V.M.A., 179 (3):265.
- 26.- Donald J. Dean, William M. (1963) Patogenesis de la rabia. Evans y Robert C. Mc Clure. WHO. 803-811.
- 27.- Donald L. Ledwell, J. Frederick (1969) Comparative study of abortive and nona Bell G. John Moore, and George H. abortive rabies in mice the J. Inf. Dis. Raymond. Vol. 119 No. 6 569-580.
- 28.- D.R. Howard, PH. D. (1981) Transplacental Transmission of rabies vi rus from a naturally infected skunk am. J. Vet. res. Vol. 42 No. 4 691-692.
- 29.- Dueñas A. Belsey M.A. Escobar (1973) J. Medina P., Sanmartin C. Isolation of rabies virus outside the hu man central nervos system. J. Infec. Dis. 127: 702-740.
- 30.- E. Pablo Correa-Girón., Rae (1970) The infectivity and pathogenesis of rabies Allen and S. Edward Sulkin. virus administered orally. Am. Jor. Ofepi demologic. Vol. 91 No.2: 203-215.
- 31.- F. Hutyra, J. Marek and (1968) Patología y terapeutica especiales de los R. manniger. animales domésticos Ed. Labor. Tomo I: 577-605.
- 32.- Fenner F. and White D. O. (1970) Medical virology. Academic press.
- 33.- F.L. Horsfall and I. Tamm (1965) Viral and rickettsial infections of man- lippincott co. P. 814-840.
- 34.- Flores crespó R, (1978) La rabia, los murciélagos y el control de los hematofagos. Ciencia Vet. 2 UNAM.
- 35.- Fuenzalida E. (1974) Consideraciones sobre la vacuna de cerebro de ratón lactante. S.P.M. Vo. XVI No. 3 - P. 443-450.
- 36.- George M. Baer. (1967) La patogenesis de la rabia en murciélagos lo. Seminario Internal sobre rabia para - las américas OPS-OMS 91.

- 37.- Harald N. Johnson (1967) Patogenesis de la rabia. 1er. Seminario internal sobre rabia para las amélicas OPS-OMS 68- 72 y 75.
- 38.- Harvey R. Fischman. (1969) Fluorescent antibody staining of rabies infected tissues embedded in paraffin Am. J. Vet. Res. Vol. 30 No.7: 1213-1221.
- 39.- Hernandez B.E. (1981) Patogenia del virus rabico en humanos.- Seminario.-Avances en el conocimiento y problemas de la rabia en México.
- 40.- Hernandez B.E. (1978) Patogenia de la rabia. Ciencia Vet.2 UNAM.
- 41.- Hernandez B.E. (1976) Vacuna antirrabica de origen de murciéla go vampiro cepa acatlán V-319 para proteger al ganado bovino contra la rabia pariente en México. Boletín sobre rabia paralitica PIRP-INIP-SAG.
- 42.- Hirozo Asihzawa, Dai (1968) Nosaka and Hiroshi Yamaguchi Distribution and virulence of rabies virus in animals inoculated with fixed virus. Bolletin of the faculty of agriculture. University of miyazaki Vol. 15 No.2 227-238.
- 43.- J.F. García A. (1980) Caracteristicas de patogenicidad de 20 cepas de virus rabico de origen canino en ratones adultos inoculados por las vias intraplantar, subcutanea e intramuscular. Tesis. F.M.V.Z. UNAM.
- 44.- J.H. Benignos A. (1970) Estudio de patogenia del virus rabico en ganado inoculado experimentalmente. Tesis. F.M.V.Z. UNAM.
- 45.- J.R. VALOTTA, H. López (1973) Adaros y N. Juan Epidemiología de la rabia bovina en América latina con especial referencia a la república de argentina. Bol. CPZ. Vol. XV No. 2 85-99.
- 46.- J.U. Umoh and D.C. Blenden (1980) Immunofluorescent staining for rabies antigen in the skin of infected. Animals. Nigerian Vet. Jour. Vol.9 No. 33-39.
- 47.- J.U. Umoh and D.C. Blenden (1980) Immunofluorescent staining of rabies virus antigen in formalin. fixed tissue after treatment with. trypsin. WHO. Manuscrito.
- 48.- J.U. Umoh and D.C. Blenden (1980) The effect of postexposure treatment on detection of rabies antigen in the skin of mice experimentally inoculated with street and fixed strains of rabies virus: Nigerian Veterinary Journal Vol. 9 No. 2 43-46.

- 49.- Kaplan M.M. and Koprowski H. (1976) La rabia. Tecnicas de laboratorio. O.M.S.
- 50.- Lewis V.J. Thacker W.L. (1974) Limitation of deteriorated trissue for rabies diagnosis. Hlth Lab. Sci. 11: 8-12.
- 51.- LLOYD A. Selby*and John (1981) D. Rhoadest Attitudes of the public towards dogs and cats as companion animals. J. small anim. pract. 22: 129-137.
- 52.- M.A. Martell D. Et al. (1974) Experimental bovine paralytic rabies "De rriengue" The veterinary record. 527-530.
- 53.- Martell M.D. Ceron Montes F. Alcocer R. (1973) Transplacental transmission of bovine rabies after natural infection- the jour of infec. Disease Vol. 127 No.3 291-293.
- 54.- Martell D.M.A. (1982) La rabia. Manuscrito.
- 55.- M. Martell D. y A. Aldasoro (1972) M. Detección de virus rabico Bol. de Of. San. Panamericana. 117-123.
- 56.- M. Martell D. (1982) Comunicación personal.
- 57.- Mayr A. Krar H. Jaeger O. (1972) Haacke H. Orale innunisierung von fuchsen gegen - tollwut- Zbl Vet. Med. B. 19: 615-625.
- 58.- Nicholson K.G. Bauer S.P. (1981) Enteric inoculation with ERA rabies virus evaluation of a candidate wildlife vaccine in laboratory rodents archives of virology 67 (1) 51-56.
- 59.- Peggy T. Swoveland and Kenneth P. Johnson. (1979) Enhancement of fluorescent antibody staining of viral antigens in formalin-fixed tissues by trypsin digestion. The jour of infec. dis. Vol. 140: No.5: 758-764.
- 60.- Renato augusto Da silva e Ary mareira de souza. (1968) Isolamento de virus rabico de pulmao, coracao, rins bexiga e outros diferentes tecidos de morcegos hematofagos Da especie desmodus rotundus. Pesq. Agropec. bras-3 291-301!
- 61.- Renato augusto Da silva e Ary mareira de souza. (1968) A-ocorrecnia do virus da raiva no utero, feto, testiculos e outros orgaos de morcegos hematofagos, desmodus rotundus. na infeccao natural. Pesq. Agropec bras. 3-265-368.
- 62.- " " " " " " Ocorrecnia do virus da raiva em diferentes tecidos de cao na, doenca natural. pesq. Agropec. bras. 3- 317-318.

- 63.- Renato Augusto Da Silva e Ary M. de Souza. (1968) A pesquisa do vírus da raiva na glandula inter-escapular de morcegos do Brasil em condicoes naturais de infeccao. P.A.B. 3- 313-315.
- 64.- Richard E. Dierks (1979) Rabies Pathogenesis and diagnosis the jour of lab. and clinical medicine. Vol. 94 - No.1: 1-4.
- 65.- Sanchez H. T.C. (1981) Evaluación de vacunas antirrabicas: fuenzalida, Acatlán V-319 y ERA, para la protección de animales utilizados como mascotas: Hamster, conejo, ratón, rata y cuye. Tesis: FESC. UNAM.
- 66.- S.S.A. SARH. (1979) "Comite Nal. de lucha contra la rabia". Programa Nal. contra la rabia.
- 67.- Smith H.A. Jones T.C. and Hunt R.D. (1972) "Veterinary pathology lea and febiger"
- 68.- Ther merck Veterinary manual (1979) A hand book of diagnosis and therapy for the veterinarian. Published.-Merck & Co. Inc. 5a. Ed. P. 280-284.
- 69.- T.J. Wiktor, A. Flamand and H. Koprowski. (1980) Use of monoclonal antibodies in diagnosis of rabies virus infection and diferentiation of rabies and rabies-related viruses Jour of virol. Meth. 1: 33-36.
- 70.- Univ. Aut. Metropolitana (1981) 1er. Seminario de rabia en México.
- 71.- Vet. Publ. Hlth (1977) Dog population explosion becoming a problem world wide: notes april P. 4.
- 72.- Vilchis V.J. (1974) Epidemiología de la rabia en México. S.P.M. Vo. XVI No. 3 407-418.
- 73.- Voller A. Bibwell D.E. and Bartletta (1979) The enzyme loked immunosorbent Assay (Elisa)
- 74.- Wiktor T.J. Gyorgy E. Schlumberger H.D. and Sokol F. and Koprowski H. (1973) Antigenic properties of rabies virus components. J. inmmunol. 110: 269-276.
- 75.- W.H.O. Journal (1975) Son alentadores los resultados obtenidos con la vacuna antirrabica de células humanas' di ploides CPZ. Bol. Vol. XVII No.3-4:21-22.