

**RESPUESTA SEROLOGICA A LA VACUNACION ANTIRRABICA
EN CACHORROS BEAGLE A LOS 2, 4 Y 5 MESES DE EDAD
PROCEDENTES DE MADRES VACUNADAS
Y NO VACUNADAS ***

DANTE GONZÁLEZ S.¹
ELISEO HERNÁNDEZ B.²
JESÚS CAMPOS V.¹

La rabia es una importante zoonosis transmitida al hombre principalmente por perros (Kaplan, 1973). Las estrategias de control de esta enfermedad han sido definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Kaplan, 1973), y consisten principalmente en la eliminación de perros callejeros y la vacunación de por lo menos el 80% de los perros domésticos.

En el Departamento de Investigación sobre Rabia Paralítica, del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP), se desarrolló una vacuna antirrábica a partir de un virus aislado de las glándulas salivales de un murciélago vampiro *Desmodus rotundus* (Bijlenga y Hernández, 1980).

Esta es una vacuna de virus vivo modificado, producida en cultivos celulares. Actualmente se elabora en la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios y está comercialmente disponible.

Se han efectuado varias pruebas de inocuidad y potencia de este biológico en perros, encontrándose que es una buena vacuna para esta especie animal (Gómez, Hernández y Campos, 1976; Sagardía *et al.*, 1978).

Recibido para su publicación el 9 de octubre de 1981.

¹ Departamento de Epizootiología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, km. 15.5 Carretera México-Toluca, C.P. 05110, Méx., D.F.

² Profesor de Virología FES-Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, Apdo. Postal 25.

Las vacunas virales de virus vivo modificado tienen muchas ventajas, entre las que se encuentran la duración de la inmunidad conferida, y el hecho de que sólo se necesita vacunar a los animales una vez al año. Estas vacunas tienen como desventaja la facilidad con que se inactivan por mal manejo y el hecho de que el virus está muy desprotegido cuando se inyecta al animal (Melgarejo *et al.*, 1982; Madrid *et al.*, 1982).

El éxito de una vacuna de virus vivo estriba en establecer un sitio de multiplicación en el animal y la consecuente producción de antígenos inmunizantes. Parte del virus inmunizante puede perderse cuando se le aplica a un animal inmune, aun cuando esta inmunidad sea pasiva (Gordon y Ford, 1971). Los animales lactantes han sido pasivamente inmunizados por el calostro, cuando son hijos de madres inmunes (Gordon y Ford, 1971) y en algunas enfermedades es posible hacer la inmunización heterotípica de los animales lactantes o jóvenes, utilizando para ello un virus que proporcione protección cruzada. Hay varios ejemplos de vacunación heterotípica contra enfermedades virales, tal es el caso del virus del sarampión que protege a los cachorros contra el moquillo canino (Delay *et al.*, 1965) y el virus de la diarrea viral bovina que protege a los lechones contra el cólera porcino (Darbyshire, 1962). En ambos casos es posible la vacunación de animales jóvenes hijos de madres inmunes, sin que se pierda parte del virus inmunizante

por ser neutralizado por los anticuerpos circulantes, pasivamente adquiridos.

En el caso del virus rábico, existen tres Lyssavirus (Fenner, 1976) que tienen relación antigénica con el virus rábico (Shope *et al.*, 1970); sin embargo, todos ellos son exóticos para México y no se sabe si es posible la inmunización heterotípica contra la rabia. Bajo estas circunstancias, es necesario conocer el comportamiento de los animales jóvenes de cada especie, que se trata de inmunizar, a fin de determinar la persistencia de anticuerpos pasivos y la fecha más temprana en que es posible hacer la inmunización, motivo del presente estudio.

Para este trabajo se utilizaron cachorros procedentes de perras vacunadas y no vacunadas a fin de examinar su estado inmunitario y su comportamiento ante la vacuna antirrábica V-319/Acatlán.

1. Se utilizó la vacuna V-319 perteneciente al lote 75-6, con un título de $10^{5.5}$ UFP/ml que en ratón lactante tenía $10^{7.3}$ DL50% ml.

2. Se utilizaron cuatro perras adultas raza beagle, con edad promedio de 2.5 años y de 12 a 14 kg de peso, libres de anticuerpos contra virus rábico y que no habían sido vacunadas contra rabia, seleccionadas de la colonia de perros del Proyecto de Rabia Paralítica, del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (SARH).

3. Para la evaluación de la tasa de anticuerpos contra el virus rábico se utilizó tanto la prueba de seroneutralización en ratones como la prueba de reducción de placas en cultivos celulares según técnica descrita por el Comité de Expertos de la OMS (Kaplan y Koprowski, 1976).

4. El análisis estadístico de los datos se efectuó por el método de varianza utilizando tanto las medidas geométricas como aritméticas de los títulos de seroneutralización expresados como la dilución más alta que protegió al 50% de los ratones o bien que causó reducción del 50% de las placas, según la prueba serológica empleada (Dulbecco, 1952; Kaplan, 1973).

Las cuatro perras seleccionadas se identificaron mediante un tatuaje en el pabellón de la oreja derecha con los números 1, 2 (Grupo A), 3 y 4 (Grupo B). Todas fueron sangradas antes de la vacunación para asegurar que estuvieron libres de anticuerpos rábicos.

El Grupo A fue vacunado con una dosis (2 ml) con la cepa V-319 (3-III-1975), por vía intramuscular en la pierna, quedando el Grupo B como testigo no vacunado. Todas se fueron apareando conforme se les presentaba el estro y se procedió a identificar a los cachorros de la misma forma después del destete.

Los cachorros de estas perras se dividieron en 4 grupos: los 1 y 2, procedentes de hembras vacunadas, se identificaron con los números del 5 al 13, y los grupos 3 y 4 con números del 15 al 26 correspondieron al grupo testigo.

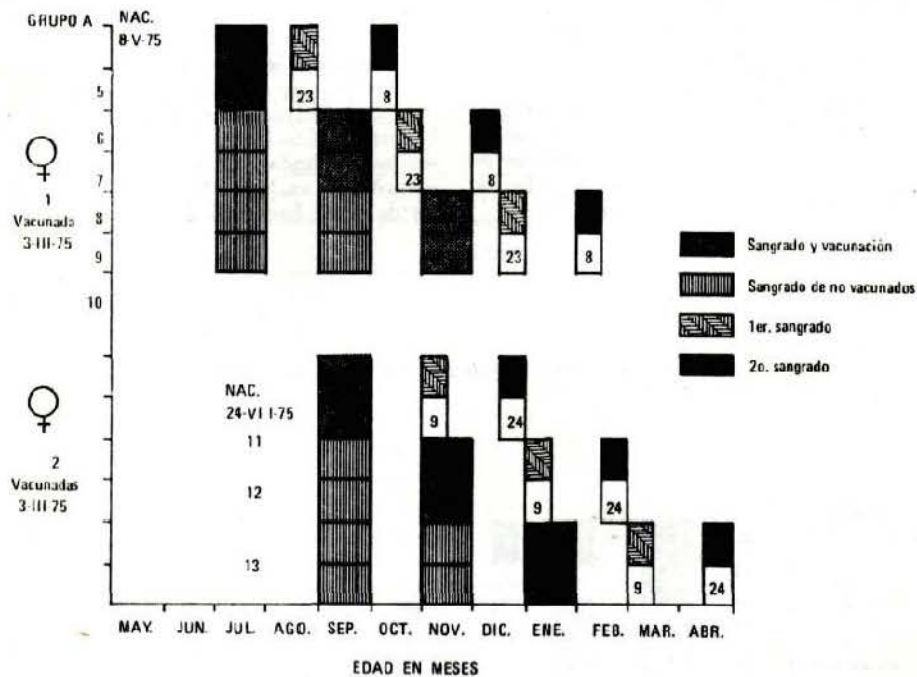
Grupo testigo. A estos grupos de cachorros se les sometió al programa de vacunación y muestreo serológico que se indica en los cuadros 1 y 2. A continuación se explica el desarrollo del programa para el grupo número uno (Cuadro 1), siguiéndose la misma secuencia para los grupos restantes:

Los cachorros 5 y 6 fueron sangrados y vacunados a los 2 meses de edad, después tuvieron dos sangrados, uno a los 45 días y otro a los 90. Los cachorros 7, 8, 9 y 10 sólo fueron sangrados ese día. Los cachorros 7 y 8 fueron sangrados y vacunados a los cuatro meses de edad, efectuándose dos sangrados posvacunales a los 45 y 90 días. El 9 y el 10 sólo fueron sangrados y vacunados a los 6 meses de edad, con dos sangrados a los 45 y a los 90 días posvacunación.

De cada muestreo serológico se obtuvieron 2 ml de suero, los cuales se diluyeron en 1 ml de solución salina fisiológica quedando un volumen de 3 ml en una dilución 1:1.5 (66%). Los sueros se fueron guardando en congelación, para determinar posteriormente el título de anticuerpos contra el virus rábico, empleando la prueba de reducción de placas.

Las cuatro perras estaban seronegativas a rabia, observándose posteriormente que

CUADRO 1
METODO SEGUIDO EN LOS HIJOS DE HEMBRAS VACUNADAS



las perras respondieron bien al estímulo vacunal. Se encontraron anticuerpos durante los dos 2 meses de gestación, mientras que las del grupo testigo permanecieron sin anticuerpos durante ese mismo estado fisiológico (Cuadro 3).

En los cuadros 4 y 5 se anotan los resultados de seroneutralización de las crías del Grupo A y B, en los cuales se puede observar que en ningún cachorro se encontró, a los dos meses de edad, anticuerpos contra virus rábico, pasivamente adquiridos.

En los muestreos posvacunales (45 y 90 días) se encontraron buenos niveles de anticuerpos contra virus rábico.

En el cuadro 6 se anotan las medidas geométricas de cada grupo de cachorros en estudio. No todos los cachorros con que se inició el experimento sobrevivieron hasta su conclusión, tres murieron antes y fueron examinados posmortem, determinándose que la causa de la muerte fue por moquillo canino. El cerebro de estos animales fue examinado por inmunofluorescencia e inoculación intracerebral de ratones, encontrándose negativo a rabia.

Era de esperarse que la inmunidad pasiva de los cachorros de perras vacunadas interfiriera con la vacunación como ocurre en otras especies animales, como en el caso

de los bovinos (Arnold, Stouraitis y Salvatierra, 1973; Sureau y Arellano, 1976). La inmunidad, pasivamente adquirida en el calostro, parece tener una vida muy corta en el caso de anticuerpos rábicos en perros.

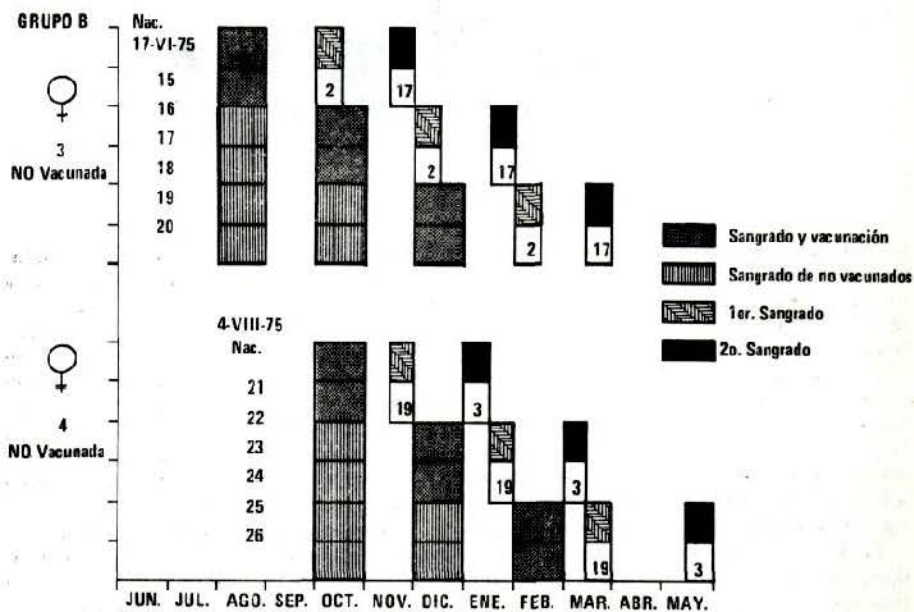
En caso de quedar la capacidad inactivante residual por debajo del nivel de detección de las pruebas empleadas, en el suero de los cachorros de perras vacunadas, el hecho probablemente se reflejaría en una baja actividad inmunizante de la vacuna.

En caso de haber perdido parte del virus por neutralización, cabría esperar que los títulos de anticuerpos de los cachorros de perras vacunadas fuera menor al de los cachorros de perras no vacunadas.

Los resultados resumidos en el Cuadro 6 indican que no existe diferencia, estadísticamente significativa, entre los títulos de anticuerpos de los perros de madres vacunadas y los de madres no vacunadas. Estos resultados parecen indicar que la vacunación desde los dos meses de edad es adecuada en cachorros, sin importar el estado inmunitario de la perra.

El reducido número de animales incluidos en este experimento, aunado a la pérdida de la mayor parte de los cachorros de la perra 2 (Cuadro 4) hace un tanto dudosos los resultados. El hecho de que no se sangró a los cachorros antes de los dos meses de edad, hace difícil hacer inferencias

CUADRO 2
METODO SEGUIDO EN LOS HIJOS DE HEMBRAS NO VACUNADAS



CUADRO 3

Títulos de seroneutralización de las perras vacunadas y no vacunadas, de las cuales se obtuvieron los cachorros para el experimento.

Hembras No.		Vacunadas		
		0 días	1 mes	2 meses
		3-III-75	3-IV-75	3-V-75
1	< 1:5		1:56 *	1:625
2	< 1:5		1:125	> 1:625
		No Vacunadas		
3	< 1:5	< 1:5	< 1:5	< 1:5
4	< 1:5	< 1:5	< 1:5	< 1:5

* Antilogaritmo de la dilución de suero que protegió al 50 % de los ratones en todos los valores de la tabla.

sobre la suerte de los anticuerpos colostrales en estos animales. Lo que sí es evidente en el estudio es que la vacuna V-319/Acatlán es inocua para cachorros hasta de 2 meses de edad.

Summary

Two months old (and older) Beagle puppies from vaccinated and non vacci-

nated bitches were in turn vaccinated with the V-319/Acatlán antirrabies vaccine in order to determine whether colostral immunity would interfere with vaccination. As a control, puppies from non vaccinated bitches were also vaccinated.

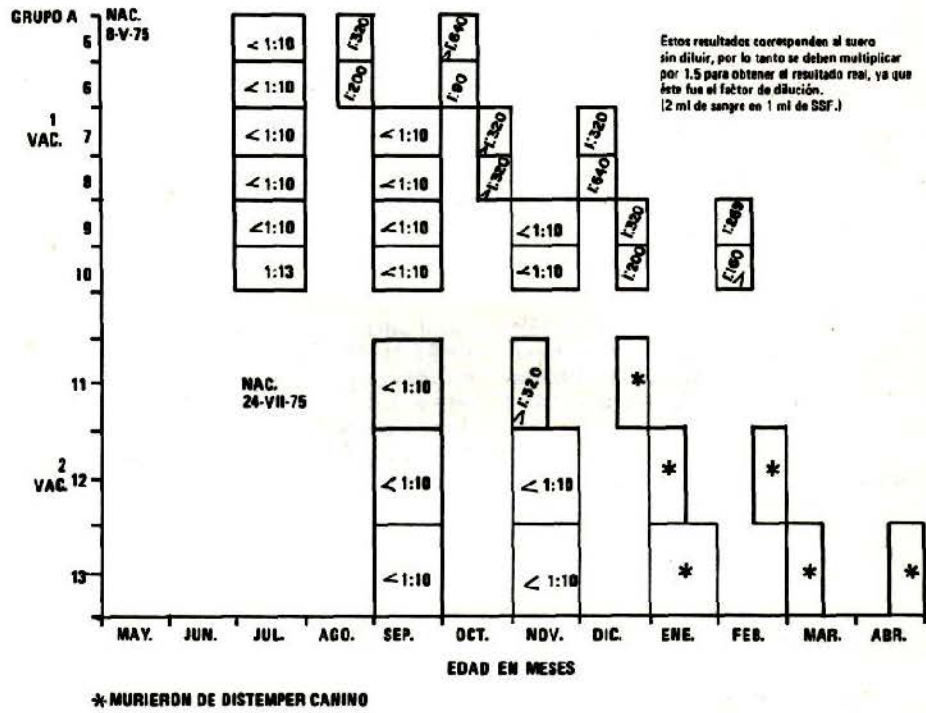
Both groups had a good response to vaccination, showing that the vaccine is safe for up to two old puppies regardless of the immune state of the dams.

Literatura citada

- ARNOLDS, R.M., P. STOURAITIS and J. SALVATIERRA, 1973, Immunity against paralytic rabies in cattle following vaccination with ERA vaccine under ranch conditions in Bolivia; Part III: The influence of maternal antibody on the success of vaccination of calves at different ages, *Trop. Anim. Health Prod.*, 5:6-11.
- BIJLENCA, G. and E. HERNÁNDEZ, 1980, Adaptation, attenuation and plaque purification of rabies isolate (V-319) from a vampire bat (*Desmodus rotundus*), *Cornell Vet.* 70:290-299.
- DARBYSHIRE, J.H., 1962, Agar Gel diffusion studies with a mucosal disease of cattle. II, a serological relationship between a mucosal disease and swine fever, *Res. Vet. Sci.*, 3:125-130.
- DELAY, P.D., S.S. STONES, D.T. KARSON, S. KATZ and J. ENDERS, 1965, Clinical and immune response of alien host to inoculation with measles, rinderpest and canine distemper viruses, *Am. J. Vet. Res.*, 26:1359-1363.
- DULBECCO, R., 1952, Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles

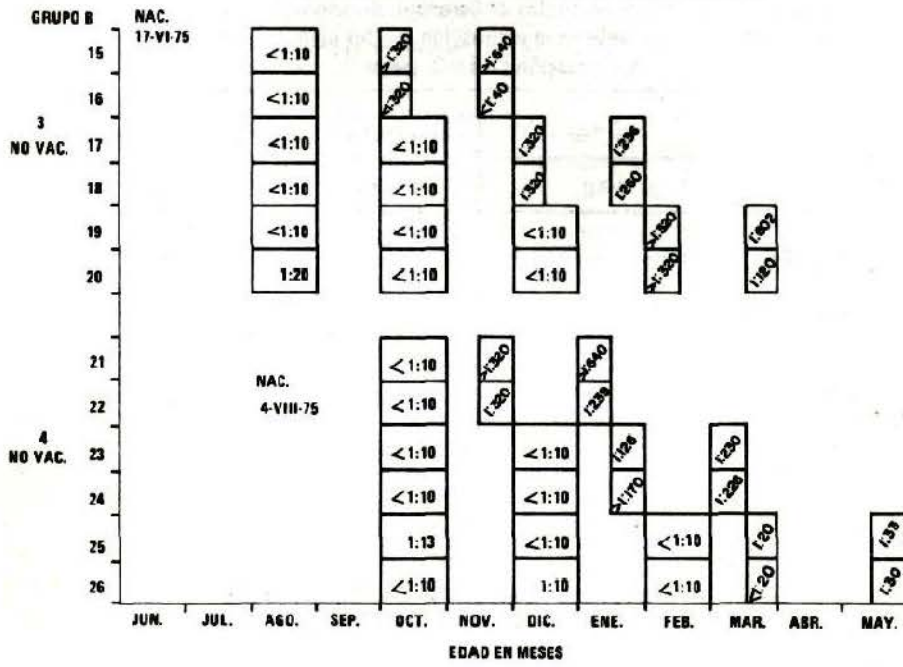
CUADRO 4

TITULOS ENCONTRADOS EN LOS HIJOS DE HEMBRAS VACUNADAS



CUADRO 5

TITULOS ENCONTRADOS EN LOS HIJOS DE HEMBRAS NO VACUNADAS



CUADRO 6

Medias geométricas de los títulos de Seroneutralización de los diferentes grupos de cachorros antes de la vacunación y a dos períodos después de la vacunación (1.5 y 3 meses).

	0 días	1.5 meses	3 meses
Hembras Vacunadas	a) 1:10	1:234	1:240
	b) 1:10	1:320	1:453
	c) 1:10	1:253	1:207
Hembras No Vacunadas	a) 1:10	1:320	1:250
	b) 1:10	1:200	1:246
	c) 1:10	1:80	1:91.8

a) Cachorros vacunados a los 2 meses de edad

b) Cachorros vacunados a los 4 meses de edad

c) Cachorros vacunados a los 6 meses de edad

F calculada - 2.69

F tabular 4.96

- of an animal virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 38:747.
- FENNER, F., 1976, The classification and nomenclature of viruses. Summary of results of meetings of the international committee on taxonomy of viruses in Madrid, September, 1975, *Virology*, 71:372-378.
- GÓMEZ, H., E. HERNÁNDEZ y J. CAMPOS, 1976, Estudios sobre inocuidad y evaluación serológica de la vacuna antirrábica V-319 en perros, *Resúmenes de la XIII Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG*.
- CORDON, B.L. and D.K. FORD, 1971, Essentials of immunology. *F.A. Davis Co. Philadelphia, P.A.*
- KAPLAN, M.M. and H. KOPROWSKI, 1973, An assessment of laboratory techniques in the diagnosis and prevention of rabies and in rabies research. *Laboratory Techniques in Rabies*, Third edition, Eds. *World Health Organization*, Geneva, Switzerland.
- KAPLAN, M.M., H. KOPROWSKI, 1976, La rabia. Técnicas de Laboratorio. *Serie de monografías* N° 23, 98-105.
- MADRID, C.J., V. ATALA C., A. DELARUE, D. OROS, D. BATALLA y E. HERNÁNDEZ B., 1982, Observaciones sobre la inmunidad inducida por algunas vacunas antirrábicas empleadas en clínicas particulares y Centros Antirrábicos en México, *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México*, 1982, pp. 53-55.
- MELGAREJO, B.A., E. HERNÁNDEZ B., O. HERNÁNDEZ B. y M. ROLDÁN C., 1982, Duración de la viabilidad de la vacuna antirrábica V-319/Acatlán después de reconstituida, *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México*, 1982, pp. 49-52.
- SACARDÍA, J., E. HERNÁNDEZ, D. GONZÁLEZ M. FERNÁNDEZ y H. PÉREZ, 1978, Duración de la inmunidad conferida por la vacuna V-319/Acatlán contra la rabia en perros, con desafío al año de la vacunación, *Resúmenes de la XIV Reunión Anual (Sección área médica) del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH*.
- SHOPE, R.E., F.A. MURPHY, A.K. HARRISON, O.R. CAUSEY, G.E. KEMP, O.I.H. SIMPSON and O.L. MOORE, 1970, Two African viruses serologically and morphologically related to rabies virus, *J. of Virol.*, 6:690-692.
- SUREAU, P. y C. ARELLANO, 1976, Estudio sobre la Interferencia de Anticuerpos maternos neutralizadores de la rabia en terneros vacunados con la cepa V-319/Acatlán. *Resultados y Recomendaciones del Proyecto de Rabia Paralítica Bovina, Informe Final preparado para el Gobierno de México*, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo FAO.