

**EVALUACION DE LA INOCUIDAD Y ANTIGENICIDAD DE TRES  
VACUNAS ANTIRRABICAS EN PEQUEÑOS ROEDORES<sup>a</sup>**SÁNCHEZ HIDALGO, CLAUDIA<sup>b</sup>GONZÁLEZ SALAZAR, DANTE<sup>c</sup>BATALLA CAMPERO, DIODORO<sup>b</sup>MARTELL DELGADO, MARIO<sup>b</sup>**RESUMEN:**

Evaluación de la inocuidad y antigenicidad de tres vacunas antirrábicas en pequeños roedores.

Debido a la falta de información referente a la vacunación antirrábica en animales utilizados como mascotas (conejos, ratas, ratones, cuyes y hamsters) se decidió evaluar la inocuidad y antigenicidad de dos vacunas; de virus vivo modificado (V-319 Acatlán y ERA) y de virus vivo inactivado (Fuenzalida). Realizando un desafío con CVS a los treinta días posvacunación. Por los resultados se concluye que las vacunas antirrábicas de virus vivo no son recomendables para utilizarse en hamsters y cuyes, pues aparte de no proteger pueden producir la enfermedad, pero si se recomiendan para inmunizar conejos. La vacuna inactivada, puede recomendarse para la protección de cuyes y conejos. Los hamsters, ratas y ratones no respondieron antigénicamente con ninguna vacuna, por lo que se recomienda un estudio más amplio incluyendo vacunas inactivadas en cultivos celulares, para conocer el biológico más apropiado para estas especies.

a. Recibido para su publicación el día 12 de agosto de 1988.

b. Proyecto de rabia. Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología INIFAP, SARH, Km. 15.5 Carr. México-Toluca, México D.F., CP 05110.

c. Proyecto de Referencia en Diagnóstico Veterinario, Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología, INIFAP, SARH, Km. 15.5 Carretera México-Toluca, D.F., CP 05110.

Téc. Pec. Méx. Vol. 27 No. 3 (1989)

En la práctica diaria de la Medicina Veterinaria, especialmente en pequeñas especies, el Médico Veterinario se encuentra ocasionalmente con el problema de si debe o no vacunar a los roedores utilizados como mascotas y que vacuna emplear, ya que estos pueden llegar a morder de manera accidental o defensiva a los niños y adultos<sup>12</sup>. Estos animales generalmente son criados en bioterios, pero ocasionalmente podrían ser mezclados con otro tipo de animales silvestres, como las ardillas capturadas en el campo, las cuales pueden albergar al virus rábico y transmitirlo<sup>3</sup>. Existe por lo tanto el riesgo potencial de que las personas que son mordidas por estas mascotas contraigan la enfermedad.

Dentro de las especies animales que muerden al hombre, los roedores ocupan un lugar importante después de los perros<sup>13</sup>, sin embargo, en la epidemiología de la rabia el papel de estos animales puede ser importante, pero hasta ahora poco conocido<sup>8</sup>. Experimentalmente se ha demostrado la susceptibilidad de estas especies a la rabia, la presencia y multiplicación del virus en sus glándulas salivales, la eliminación salival del mismo y en consecuencia la

posibilidad de transmitir la enfermedad<sup>11,12,14</sup>

A excepción del uso de animales de laboratorio en experimentación y evaluación de vacunas antirrábicas, no se encuentran referencias de la utilidad de las vacunas disponibles para prevenirla eventual presencia del virus rábico en animales como conejos, ratas, ratones, cuyes y hamsters. Con base en estos antecedentes y a la falta de información referente a la vacunación de mascotas, se decidió a realizar la presente investigación, para conocer y/o comprobar la inocuidad, antigenicidad y dosis, de dos vacunas antirrábicas con virus vivo y una inactividad, en conejos, hamsters, cuyes, ratas, y ratones.

Se emplearon los siguientes animales:

ESPECIE	Nº DE ANIMALES	PESO
Conejos ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	34	800 - 900 g
Hamsters ( <i>Cricetus cricetus</i> )	36	110 - 140 g
Cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> )	20	300 - 350 g
Ratas ( <i>Rattus rattus</i> )	36	300 - 350 g
Ratones ( <i>Mus musculus</i> )	59	15 - 20 g

Las vacunas utilizadas fueron:

Vacuna Fuenzalida<sup>6</sup>, de virus inactivado al 2.5% en cerebro de ratón lactante (CRL), con un título de  $10^{5.8}/0.03$  en ratón de 21 días, antes de la inactivación, y 10 000 DL 50% de protección, utilizando la prueba de Habel<sup>5</sup>, Vacuna Acatlán V-319<sup>7</sup>, de virus vivo modificado en células BHK-21, con un título de  $10^{5.5}/0.03$  ml CRL. Vacuna ERA<sup>1</sup>, de virus vivo modificado, en células renales de cerdo, con un título de  $10^{3.63}/0.03$  ml intracerebral en ratón de 21 días.

Como virus de exposición se utilizó, Challenge Virus Strain (CVS) con un título de  $10^{-7.6}/\text{ml}$  intercerebral en ratón de 21 días.

Se sangraron cuatro animales de cada grupo, elegidos al azar, para verificar que estuvieran libres de anticuerpos contra rabia, mediante la prueba de seroneutralización<sup>10</sup>.

Para la vacunación, cada especie animal se dividió en cuatro grupos, incluyendo los testigos, y se alojaron en locales separados; la vía y dosis elegida se consideró sobre volúmenes de líquido que fueran factibles de aplicar sin problemas, de acuerdo al tamaño del animal (Cuadro 1), se utilizó una jeringa desechable para tuberculina.

Las vacunas de virus vivo se titularon según lo señala el Code of Regulations<sup>4</sup> y la Dirección General de Sanidad Animal<sup>5</sup> para conocer la DL 50% empleada en la vacunación. para la vacuna inactivada Fuenzalida<sup>6</sup>, se usó la prueba de Habel, según lo señala la Dirección General de Sanidad Animal<sup>5</sup>.

Todos los animales fueron desafiados intramuscularmente a los 30 días de la vacunación con 0.25 ml (conejos, hamsters, cuyes y ratas) y 0.1 ml (ratones), con un inóculo de contenido 1 000 000 DL 50% en ratón de 21 días por 0.03 ml intracerebral, equivalentes a 1 585 DL 50% en ratón de 21 días intramuscular. A todos los animales muertos se les sometió a la prueba de anticuerpos fluorescentes<sup>10</sup>, para verificar la causa.

Los resultados muestran (Cuadro 2) que en hamsters, utilizando la vacuna Fuenzalida<sup>6</sup> en dosis de 0.25 ml por vía subcutánea, no se obtuvo ninguna protección; se desconoce si esto se debió al escaso estímulo antigénico de esta vacuna en hamsters, o que la dosis utilizada no fue capaz de

CUADRO 1.

INOCUIDAD DE LAS VACUNAS FUENZALIDA, ACATLÁN V-319 Y ERA, EN HAMSTERS, CUYES, CONEJOS, RATAS Y RATONES.

ESPECIE	Nº DE ANIMALES	VACUNA	DOSIS	VIA	Nº DE MUERTOS	MORTALIDAD(%)
Hamsters	10	Fuenzalida	0.25 ml	SC	0	0
	10	V-319	0.10 ml	IM	4*	40
	8	ERA	0.10 ml	IM	1*	12.5
	8	Testigos				
Cuyes	8	Fuenzalida	0.25 ml	SC	0	0
	6	V-319	0.10 ml	IM	0	0
	7	ERA	0.10 ml	IM	0	0
	8	Testigos				
Conejos	10	Fuenzalida	0.25 ml	SC	2**	0
	7	V-319	0.25 ml	IM	0	0
	8	ERA	0.25 ml	IM	0	0
	9	Testigos				
Ratas	9	Fuenzalida	0.25 ml	SC	0	0
	10	V-319	0.10 ml	IM	0	0
	9	ERA	0.10 ml	IM	0	0
	8	Testigos				
Ratones	10	Fuenzalida	0.25 ml	SC	0	0
	9	V-319	0.10 ml	IM	0	0
	10	V-319	0.05 ml	IM	0	0
	10	ERA	0.10 ml	IM	0	0
	10	ERA	0.05 ml	IM	0	0
	10	Testigos				

(\*) Muertos de rabia. (\*\*) Muertos de Coccidiosis (negativos a inmunofluorescencia e inoculación de ratones).

SC= subcutánea. IM= intramuscular.

incucirlo y se requiera de dosis mayores o dosis repetidas. Con la vacuna V-319, en dosis de 0.1 ml por vía intramuscular, se obtuvo un 33% de protección; la cepa V-319 resultó patógena para el hamster (Cuadro 1), pues produjo rabia en cuatro de los animales (40%), debido a esto no se recomienda su uso para esta especie. La cepa ERA también resultó patógena para el hamster, aunque en menor proporción que la cepa V-319 (Cuadro 1), muriendo uno de ocho animales (12.5%), y además no hubo protección al desafío, tal vez se pudiera aumentar la dosis, pero esto también aumentaría el riesgo de infección, por

lo que no es recomendable para hamsters.

En los cuyes, la vacuna Fuenzalida<sup>6</sup> en dosis de 0.25 ml por vía subcutánea, protegió a cuatro de los ocho animales vacunados (50%), lo cual indica que si hubo respuesta inmunoprotectora y que tal vez al repetir la dosis se puede obtener una mayor protección. Con la vacuna V-319, aunque no se presentó rabia en ninguno de los animales vacunados, se tiene conocimiento de que esta cepa es patógena para esta especie<sup>9</sup>, motivo por el cual no se usa para la prueba de potencia de Habel, no obstante que se registró protección en todos

CUADRO 2.

PROTECCIÓN CONFERIDA POR LAS VACUNAS FUENZALIDA, ACATLÁN V-319 Y ERA AL DESAFIO CON VIRUS CVS A LOS 30 DÍAS POS-VACUNACIÓN.

ESPECIE	VOLUMEN INOCULADO	VIA	Nº DE MUERTOS	Nº DE VIVOS	% PROTECCIÓN	% MORTALIDAD
<b>Hamsters</b>						
Fuenzalida	0.25 ml	IM	10	0	0	100.0
V-319	0.25 ml	IM	4	2	33.0	77.0
ERA	0.25 ml	IM	7	0	0	100.0
Testigos		IM	8	0	—	100.0
<b>Cuyes</b>						
Fuenzalida	0.25 ml	IM	4	4	50.0	50.0
V-319	0.25 ml	IM	0	6	100.0	0.0
ERA	0.25 ml	IM	1	6	85.7	14.3
Testigos		IM	7	1	—	87.5
<b>Conejos</b>						
Fuenzalida	0.25 ml	IM	1	7	87.5	12.5
V-319	0.25 ml	IM	2	5	71.4	28.6
ERA	0.25 ml	IM	1	7	87.5	12.5
Testigos		IM	6	3	—	66.5
<b>Ratas</b>						
Fuenzalida	0.25 ml	IM	7	2	22.2	77.8
V-319	0.25 ml	IM	8	2	20.0	80.0
ERA	0.25 ml	IM	9	0	0	100.0
Testigos		IM	8	0	—	100.0
<b>Ratones</b>						
Fuenzalida	0.1 ml	IM	10	0	0	100.0
V-319	0.1 ml	IM	5	4	45.0	55.0
V-319	0.1 ml	IM	7	3	60.0	40.0
ERA	0.1 ml	IM	9	1	10.0	90.0
ERA	0.1 ml	IM	8	2	20.0	80.0
Testigos		IM	8	2	—	80.0

CVS - Challenge Virus Strain

IM - Intramuscular

SC - Subcutánea.

los animales vacunados (100%). La cepa ERA protegió a seis de siete animales vacunados (85.7%).

En conejos, la vacuna Fuenzalida<sup>6</sup>, en dosis de 0.25 ml vía subcutánea, dió resultados satisfactorios, ya que protegió a siete de ocho animales vacunados (87.5%), siendo recomendable la aplicación de una segunda dosis de refuerzo para aumentar el porcentaje de protección. La vacuna

V-319 en dosis de 0.25 ml por vía intramuscular, confirió protección a cinco de siete animales vacunados (71.4%), lo cual la hace recomendable para la vacunación de conejos; asimismo, la cepa ERA protegió al igual que la vacuna Fuenzalida<sup>6</sup> a siete de ocho vacunados (87.5%), siendo también de utilidad para la inmunización de conejos.

En las ratas, al usar la vacuna

Fuenzalida <sup>6</sup>, a dosis de 0.25 ml. por vía subcutánea, se observó una protección muy baja, sobreviviendo solo dos de nueve vacunadas (22.2%), lo cual nos indica que la cantidad de antígeno utilizado no fue capaz de inducir una adecuada inmunidad; tal vez utilizando una dosis de refuerzo se obtenga mayor protección. La cepa V-319 protegió a dos de ocho vacunadas (20%), no fue patógena para las ratas, pero fue muy pobre la respuesta antigénica. La cepa ERA no confirió ninguna protección en ratas. Debido a estos resultados, estas dos vacunas de virus vivo, no son recomendables para inmunizar a las ratas.

En ratones, la vacuna Fuenzalida <sup>6</sup> en dosis de 0.25 ml. por vía subcutánea, no confirió ninguna protección. Estos resultados abren una interrogante y se debe investigar la causa por la cual no hubo ninguna respuesta inmunológica, ya que aparentemente es baja la antigenicidad de las vacunas inactivadas en ratones aplicando una dosis; esto es importante porque estos animales son utilizados para evaluar la potencia de estas vacunas. La cepa V-319 protegió un 45 y 60% con 0.10 ml y 0.05 ml por vía intramuscular respectivamente; tal vez sea recomendable utilizar dos aplicaciones para aumentar la protección. La vacuna cepa ERA confirió una baja protección, del 10 y 20% con las mismas dosis, por lo que no se recomienda su utilización en ratones.

En todos los animales, el cuadro clínico consistió en parálisis ascendente, iniciada en la extremidad izquierda, que se utilizó para el desafío con virus CVS; erizamiento de pelo, postración, convulsiones y muerte.

Se concluye que las vacunas antirrábicas de virus vivo cepa V-319 y ERA no son recomendables para utilizarse en hamsters y cuyes pues en

el caso de los hamsters, aparte de no proteger, son capaces de producir la enfermedad. En cuyes protegen adecuadamente, pero ocasionalmente pueden producir la enfermedad <sup>9</sup>. Para conejos, para la protección antirrábica son recomendables. La vacuna inactivada Fuenzalida <sup>6</sup>, puede recomendarse para la protección de cuyes y conejos, de preferencia con dos aplicaciones. Los hamsters, ratas y ratones, son animales que no respondieron fácilmente al estímulo antigénico de las vacunas Fuenzalida, V-319 y ERA, por lo cual es necesario un estudio más amplio incluyendo vacunas inactivadas en cultivos celulares para conocer el biológico adecuado para estas especies.

#### SUMMARY.

Due to the lack of information concerning anti-rabies vaccination in animals used as pets (rabbits, rats, mice, hamsters, guinea pigs) it was decided to evaluate the inocuity and antigenicity of two vaccines prepared with live modified virus (strain V-319 Acatlán and ERA), and one with inactivated virus (Fuenzalida). The challenge was done with CVS virus at 30 days post-vaccination. The obtained results indicate that the anti-rabies vaccines prepared with live virus are not suitable to be used in hamsters and in guinea pigs, since they did not protect and were capable of producing disease. The vaccines were satisfactory for rabbits. The inactivated vaccine was suitable and conferred protection in guinea pigs and rabbits. Hamsters, rats and mice did not respond immunologically against any of the above vaccines. Due to these reasons a wider study is a required including inactivated vaccines prepared in tissue culture, in order to know the most appropriate vaccine to protect these species against rabies.

#### LITERATURA CITADA

- 1 ABELSETH, M.K. 1964. An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture; *Can, Vet., J.* 5 (11).
- 2 BIJLENGA, G. y JOUBERT, L. 1974. Haute pathogenicite pour la souris par voie digestive

d' un composant viral du vaccin anti-rabique a virus vivant modifié ERA/BHK; *Bull. Acad. Vet.* 47.

3 BROWN, J.L. TIGPALAPONG, M., ANDREWS, W.K. 1979, Serological survey of feral rodents in Thailand for evidence of rabies virus infection, *J.W. Dis.* 15 (4).

4 CODE OF FEDERAL REGULATION. 1978. Title 9 animal and animal products, 113, 147: 335-339.

5 DIRRECCION GENERAL DE SANIDAD ANIMAL. SUBSECRETARIA DE GANADERIA. SARH 1977. Requerimientos mínimos de calidad que deberán llenar los productos biológicos para su uso veterinario. Departamento de Control de biológicos, farmacéuticos, alimenticios y equipos para animales. México, D.F.

6 FUENZALIDA, E. 1974. Consideraciones sobre la vacuna en cerebro de ratón lactante; *Salud Pública de Méx.* V. XVI. (3).

7 HERNANDEZ, B. E. 1976. La rabia parasiática bovina: definición del problema y metodología de control; *Ciencia Veterinaria. UNAM* 1: 106-125.

8 IRVIN, A.D. 1970. The epidemiology of Wild-

life rabies; *The Vet. Rec.* 87 (12).

9 JARAMILLO, B.M.T. 1979. Determinación de la potencia de la vacuna antirrábica Acatlán V-319 en cobayos; Tesis. Escuela de Ciencias Biológicas. IPN

10 KAPLAN, M.M. Y KOPROWSKI, H. 1976. La rabia. técnicas de laboratorio; OMS

11 MARTELL, D.M. Y BATALLA, C.D. 1969. Detección de fluorescencia específica de la rabia antes de la aparición de signos en ratones inoculados intracerebralmente, con 5 cepas de virus rábico con y sin DMSO; *Téc. Pec. Méx.* 12-13

12 OFICINA SANITARIA PARAMERICANA, OMS 1979. Vigilancia Epidemiológica.

13 WINKLER, W.G. 1966. Rodent rabies; proceedings: National rabies symposium. may. 5-6.

14 WINKLER, W.G., SHADDOCK, J.H., WILLIAMS, L.W. 1976. Oral rabies vaccine: evaluation of its ineffectivity in three species of rodents; *Am. J. Epidem.* 104. (3).