

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Comparación de la Respuesta de Anticuerpos a  
las Vacunas Antirrábicas Humanas Irradiadas  
Cerebro de Conejo y Cerebro de Ratón Lactante  
Producidas en Guatemala

Trabajo realizado en el Instituto Biológico de Sanidad Pública

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala,

POR

YVETTE SINIBALDI HUMPHREY

en el acto de su investidura de

QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, C. A.—Octubre de 1968

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia  
Sección de Tesis

454855

D  
66  
T(1329)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
QUIMICAS Y FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE  
SAN CARLOS DE GUATEMALA**

- Decano ..... Lic. Rafael Letona R.
- Vocal 1º ..... Lic. Rafael Cazali
- Vocal 2º ..... Licda. Sara B. de Monzón
- Vocal 3º ..... Lic. Mario Dary
- Vocal 4º ..... Br. Carlos Enrique Samayoa
- Vocal 5º ..... Br. Norma Arriola
- Secretaria ..... Licda. Rosario A. de Carrillo

**TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN  
GENERAL PRIVADO**

- Decano ..... Lic. Rafael Letona R.
- Vocal ..... Lic. Arturo Mendizábal
- Examinador ..... Dr. Enrique Herrarte
- Examinador ..... Dr. Juan de Dios Calle
- Secretaria ..... Licda. Rosario A. de Carrillo

DEDICO ESTE ACTO:

*A mis padres:*

*Rafael Sinibaldi A.*

*Alicia H. de Sinibaldi.*

*A mis hermanos:*

*Edith*

*Ileana*

*Gustavo*

DEDICO ESTA TESIS:

*A la Universidad de San Carlos de Guatemala*

*A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*

*A mis maestros*

*HONORABLE TRIBUNAL  
EXAMINADOR:*

*Tengo el honor de presentar a vuestra consideración el presente trabajo titulado: Comparación de la respuesta de anticuerpos a las vacunas antirrábicas humanas irradiadas cerebro de conejo y cerebro de ratón lactante producidas en Guatemala, el cual desarrollé como Tesis de Graduación, previo a obtener el título de Químico Biólogo.*

*Deseo manifestar mi agradecimiento al doctor Julio Paredes, director del Centro de Salud N° 1 de Sanidad Pública, quien asesoró y supervisó este trabajo, y al doctor Rodrigo Sánchez por haberme brindado la oportunidad de realizarlo en el Instituto Biológico de Sanidad Pública. Asimismo, agradezco la valiosa colaboración de la señora Thelma Ruiz, técnica de laboratorio del Instituto mencionado; de la señora María Teresa de Salguero en la obtención de las muestras, y al señor Rodolfo Poitevin, jefe de la Sección de Bioestadística en el análisis de los datos.*

## CONTENIDO

- I. Introducción.
- II. Antecedentes.
- III. La vacuna de ratón lactante (CRL):
  - A) Generalidades;
  - B) Lotes de vacuna CRL preparados en Guatemala.
- IV. Material y Métodos:
  - A) Descripción de la población;
  - B) Técnicas de vacunación;
  - C) Recolección de muestras de sangre;
  - D) Determinación de anticuerpos;
  - E) Método empleado para calcular el poder neutralizante de los sueros.
- V. Resultados y discusión.
- VI. Resumen y conclusiones.
- VII. Cuadros y gráficas.
- VIII. Bibliografía.

## I. INTRODUCCION

Considerando la magnitud del problema de la rabia en Guatemala, y anticipando que este problema persistirá por mucho tiempo en el futuro, cualquier esfuerzo tendiente a la mejora de los métodos de control y prevención estará justificado. Los investigadores en el campo de la salud, están continuamente ensayando nuevas vacunas que tengan efectividad y que disminuyan el riesgo de lesiones del sistema nervioso, inherentes a la vacuna.

La vacuna de cerebro de ratón lactante (CRL) tiene buenas perspectivas por la carencia de mielina en su composición. Es necesario, sin embargo, probar la efectividad de los lotes preparados en Guatemala.

El presente estudio resume experiencias sobre la efectividad de la vacuna CRL, como una contribución al conocimiento de ésta, y su aplicación en nuestro medio.

## II. ANTECEDENTES

Desde tiempos inmemoriales la rabia ha afligido a la humanidad por el trauma físico y psicológico que la adquisición de la infección, por mordedura, y el desarrollo de la enfermedad siempre mortal, acarrea tanto al paciente como a las personas que le rodean.

Son muy pocos los países exentos de la rabia y en la mayoría este es un problema de salud de magnitud apreciable, en unos más que en otros.

En Guatemala la rabia ha existido desde tiempos antiguos y como consecuencia de esto, el 21 de noviembre de 1907 se inauguró el Instituto Nacional de Vacuna. En el año 1915 se creó el Instituto Antirrábico y hasta 1929 se comenzó a elaborar la vacuna antirrábica tipo Pasteur y Semple. En 1959 se introdujo un nuevo tipo de vacuna, la vacuna irradiada con luz ultravioleta, y en 1967 la vacuna preparada con cerebro de ratón lactante (CRL).

Debe mencionarse la existencia de vacunas preparadas en ausencia de tejido nervioso, tales como la de embrión de pato y la elaborada en cultivo de tejidos.

Con relación a la vacuna embrión de pato, aunque no se produce en Guatemala, se ha empleado en nuestro medio, no habiendo hasta el presente un estudio sobre su utilización y efectividad; sin embargo, en otros países se ha empleado con éxito y debido principalmente a la ausencia del "factor paralítico" de la mielina del tejido nervioso, ofrece mayores posibilidades (3, 8, 25).

Vacunas antirrábicas producidas en cultivo de tejidos se han venido estudiando y a la fecha ya se producen comercialmente, aunque en Guatemala no se han utilizado.

Lo mismo que la vacuna producida en embrión de pato carece del "factor paralítico", con la ventaja de tener menos proteína extraña (20). Los tejidos empleados han sido riñón de Hamster y riñón de cerdo, este último es el más empleado en la actualidad (21).

El problema es endémico en la mayoría de la población canina del país, con exacerbación frecuente debido al desarrollo de epizootias, por lo que es necesario llevar a cabo métodos de control y profilaxis.

Las estadísticas vitales indican que el número de personas mordidas se ha elevado progresivamente desde 1958, como puede verse en el cuadro número 1.

En 1967 se llevó a cabo la mayor campaña antirrábica en el país, con la eliminación de 43,237 y la vacunación de 23,199 perros.



Asimismo, en el cuadro número 1 se indica la situación de la rabia en Guatemala, en el período comprendido entre 1958 a 1967.

Es oportuno hacer notar el número de personas muertas por rabia, que fue de 6 en 1966 y de 3 en 1967.

### III. LA VACUNA DE CEREBRO DE RATON LACTANTE (CRL)

#### A) *Generalidades*

Es bien sabido que la inyección del virus de la rabia preparado a partir de tejido nervioso de conejo, puede causar en humanos y animales reacciones alérgicas de tipo nervioso, a menudo muy peligrosas o fatales (31). Esta acción se ha atribuido a la mielina, vaina de sustancia adiposa que rodea el cilindro-eje y que no es removida de la preparación viral.

En Guatemala se han registrado en el período comprendido entre 1958 a 1966, siete casos con complicaciones neurológicas (6).

Con el propósito de lograr una vacuna sin mielina, se iniciaron investigaciones independientemente en Chile y Rusia, en animales que todavía no habían entrado en proceso de mielinización por su edad. Estas investigaciones estuvieron bajo la dirección de Fuenzalida (1955) (12, 14) y de Svet-Moldavskaya y colaboradores (1955).

El grupo de Svet-Moldavskaya trabajó desde 1955 en la elaboración y mejoramiento de esta vacuna. Al principio se preparaba a partir de cerebro de conejo recién nacido, ya que durante los primeros seis días de vida, la cantidad de sustancia encefalitogénica es prácticamente nula. Más tarde notaron que el mejor tejido para la producción de las vacunas no alérgicas contra la rabia, es el cerebro de ratones blancos lactantes de menos de diez días de vida, ya que las sustancias que causan encefalitis, por razones

alérgicas, todavía no se han desarrollado. (Kabat et al. 1947, 1948; Thomas et al. 1950; Svet Moldavskaya et al. 1962).

En estudios independientes Fuenzalida demostró que el título obtenido en ratones blancos lactantes era mucho más alto que el logrado en conejos lactantes, permitiendo así inyectar una menor cantidad de vacuna y disminuyendo el riesgo de los accidentes neurológicos.

Este mismo grupo probó, por medio de pruebas de potencia, que la vacuna CRL protege en mayor grado que la preparada a partir de material de cerebro de conejo.

La vacuna de ratón lactante está siendo usada en gran escala en Argentina, Perú, Uruguay, Brasil y Chile (11).

En Guatemala, en el Laboratorio Biológico de Sanidad Pública, se han producido tres lotes de esta vacuna, siendo las primeras personas vacunadas, las utilizadas en el presente trabajo.

La vacuna CRL se prepara en ratones albinos lactantes de cuatro a cinco días de vida, por inoculación por la vía intracerebral con la cepa "Confrontation virus standard" (CVS) de virus rábico fijo, a una dilución de  $10^{-3}$   $DL_{50}$ . Los animales se sacrifican a los siete días y luego se extraen los cerebros, haciéndose una suspensión al 5% de tejido, irradiándola después con luz ultravioleta y diluyéndose después la suspensión al 1%. La vacuna se preserva con mertiolato a una concentración final de 1:10,000 y fenol al 1:1,000. Después se hacen pruebas de esterilidad de la vacuna final en medio de tioglicolato de sodio y pruebas de inocuidad, inoculando intracerebralmente 16 ratones con una dosis de 0.03 ml cada uno, y dos conejos, de los cuales debe sobrevivir la totalidad sin mostrar síntomas de rabia, al término de 30 días.

Las concentraciones de virus en el cerebro de ratones albinos lactantes es alto, habiéndose obtenido títulos de  $10^{-7.7}$   $DL_{50}/0.03$  ml.

Esta vacuna ha sido adoptada por laboratorios oficiales y privados de diferentes países latinoamericanos. La razón por la cual se ha generalizado su uso es por la elevada potencia antigénica, facilidad de producción, alto rendimiento y bajo costo. Además, como en los cerebros de ratones lactantes con los cuales se produce la vacuna hay cantidades mínimas de sustancias encefalitogénicas, es conveniente utilizarla actualmente en la profilaxis humana y canina.

En estudios hechos con voluntarios del Centro Panamericano de Zoonosis, en la República Argentina, se demostró la relación existente entre la potencia antigénica de la vacuna CRL y su condición inmunogénica para la inducción de anticuerpos antirrábicos neutralizantes de alto título en los individuos tratados. En éstos se comprobó que a los 21 días después de la primera vacuna, el nivel de anticuerpos era elevado, siendo las medianas de 1:180 para el grupo que recibió tres dosis y de 1:200 para el que recibió cinco dosis. Estos datos se obtuvieron por pruebas de suero neutralización. (Godoy y Fuenzalida, 1966.)

La respuesta inmune expresada como la elevación del nivel de anticuerpos neutralizantes antirrábicos es satisfactoria también en perros, gatos y caballos (13).

Más de 90,000 personas han recibido el tratamiento antirrábico con vacuna CRL en Argentina, Brasil, Chile, Perú y Uruguay, sin que se observaran accidentes neuroparalíticos, ni fallas del tratamiento (11, 13).

Las reacciones observadas en el sitio de inyección se limitan a dolor, prurito, exantema máculo papular, que desaparecen generalmente en 48 horas. Un caso excepcional fue una persona que presentó exantema polimorfo máculo papular generalizado, de coloración rojo vino, especialmente en las extremidades inferiores; además, dolor intenso en el sitio de inoculación (12). Cefalea y fiebre ocurre en menos del 3% de los casos.

## B) *Lotes de vacuna CRL preparados en Guatemala*

Hasta el momento han preparado en el Laboratorio Biológico de Sanidad Pública, el doctor A. Ericastilla y la señora T. de Ruiz, tres lotes de vacuna CRL. El protocolo del Lote número 1, empleado en la vacunación de las personas que sirvieron para el estudio que se indica en este trabajo, es el siguiente:

Inoculación del virus: 18 de noviembre de 1967.

Cepa: 91-122/1 (10 de julio de 1966), enviada del Centro Panamericano de Zoonosis, en Azul, Provincia de Buenos Aires, Argentina, de la que se efectuó el primer pasaje para preparar un "stock" de fecha 13 de noviembre de 1967.

Se extrajeron los cerebros de los ratones lactantes, se trituraron en un molino Eppembach, e irradiaron con luz ultravioleta en el irradiador Dill.

El peso de tejido cerebral obtenido fue de 90.65 gr. Se prepararon dos suspensiones, al 5% y al 10%, en agua destilada. Se usaron los siguientes preservativos: fenol al 1:1,000 y mertiolato al 1:10,000. Por último se hizo una suspensión del tejido cerebral al 1% en agua destilada, concentración final a la que es usada.

Se hacen pruebas de esterilidad en medio de tioglicolato de sodio, de todos los pasos para la elaboración de la vacuna, como son: el inóculo, la molienda, vacuna después de la irradiación, antes del envase y, por último, de la vacuna ya envasada lista para su empleo.

Los controles biológicos que se efectúan, son los siguientes:

Prueba de inocuidad, inoculando 0.03 ml intracerebralmente a 20 ratones y 2 conejos; el resultado fue que no murió ningún animal en los 30 días de observación.

Método para determinar la potencia de la vacuna, según los requerimientos mínimos de los Institutos Nacionales de Higiene (NIH) de los Estados Unidos (4):

DE <sub>50</sub> vacuna de referencia.....	= 1.83
DE <sub>50</sub> Lote número 1.....	= 0.34
Valor antigénico .....	= 5
Inyectadas 31 DL <sub>50</sub>	
Título del CVS—24 1/2 .....	= 10 <sup>-7.3</sup> DL <sub>50</sub>

#### IV. MATERIAL Y METODOS

##### A) Descripción de la población

Para el presente trabajo se tomaron dos grupos de personas de 10 individuos cada uno. Los grupos fueron divididos por edades y fueron vacunados como se indica en el cuadro número 2.

Todas las personas vacunadas pertenecían al departamento de Guatemala.

Estas personas fueron vacunadas porque habían sido mordidas por perros que posteriormente murieron de rabia, o por perros no controlados, o porque habían estado en contacto con perros rabiosos.

Ninguna de las personas había sido vacunada previamente contra la rabia.

El cuadro número 3 indica el sitio de mordedura y las personas que tuvieron contacto con perros rabiosos.

El primer grupo recibió un tratamiento completo de 14 inyecciones consecutivas de vacuna antirrábica irradiada, preparada con cerebro de conejo (Lote 190 I.B.); y el segundo, 14 inyecciones consecutivas de la vacuna de cerebro de ratón lactante (CRL).

##### B) Técnica de vacunación

La dosis de vacunación es una inyección subcutánea de 2 ml de una suspensión al 5% en la vacuna cerebro de conejo irradiada, y al 1% en la vacuna cerebro de ratón lactante (CRL) irradiada.

El sitio de inoculación fue en el abdomen, inyectándose las 14 vacunas en diferente sitio. Una señora recibió el tratamiento en la espalda, por encontrarse embarazada.

#### C) *Recolección de muestras de sangre*

La recolección de muestras se llevó a cabo en cuatro diferentes etapas.

La primera muestra de sangre se extrajo antes del inicio del tratamiento antirrábico.

La segunda se tomó al finalizar el curso de la vacunación.

La tercera fue extraída un mes después de terminar el tratamiento de vacunación.

La cuarta, a los tres meses de terminado el curso de vacunación.

Estas muestras fueron tomadas en tubos Vacutainer de 13 mm × 100 mm, con aguja número 21.

Las sangres coaguladas fueron incubadas a la temperatura ambiente durante cuatro a seis horas. Luego se procedió a desprender el coágulo y se centrifugaron a 600 rpm durante 30 minutos. Los sueros se trasvasaron con pipetas estériles a tubos 13 mm × 100 mm con tapón de algodón, los cuales fueron refrigerados a  $-4^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, y luego congelados a  $-60^{\circ}\text{C}$ .

La cantidad de suero extraído varió entre 1 y 4 ml.

Las pruebas llevadas a cabo con estas muestras, consistieron en la determinación del nivel de anticuerpos neutralizantes antirrábicos.

#### D) *Determinación de anticuerpos*

La técnica usada fue la prueba regular de suero neutralización (SN), siguiendo el método de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El antígeno usado para las pruebas de suero neutralización es la cepa de virus rábico PV 11, cuyo "stock" se mantiene en el Laboratorio Biológico de Sanidad Pública, en ampollas de 2 ml cada una, de suspensión al 20% de cerebro de conejo y agua destilada, a una temperatura de  $-60^{\circ}\text{C}$ .

El pasaje del 17 de noviembre de 1967, CVS 24 1/3 fue titulado previamente dando los siguientes resultados:

Diluc. virus	Ratones inocul.	Vivos	Muertos rabia	Vivos	Muertos rabia	Por ciento de muertos
10 <sup>-4.7</sup>	10	0	10	0	24	100
10 <sup>-5.7</sup>	10	2	8	2	12	84
10 <sup>-6.7</sup>	10	8	2	10	4	28
10 <sup>-7.7</sup>	10	8	2	18	2	10

Título: 10<sup>-6.31</sup>

El diluyente usado es una solución al 2% de suero de conejo, en agua destilada, inactivado a  $56^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos.

Los sueros controles o de referencia usados, fueron de origen equino, refinado y concentrado por la casa "Lederle", obtenidos por Sanidad Pública. La mediana del título dado por este suero, en las diferentes pruebas de suero neutralización fue de 1:6000, contra 38  $\text{DL}_{50}$ .

El procedimiento consistió en inactivar los sueros a  $56^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos. A continuación se hicieron cinco diluciones por suero de la siguiente forma: 1:5, 1:25, 1:125, 1:250, 1:625; cada dilución se mezcló luego con un volumen igual de la cepa CVS de virus rábico fijo, el cual contenía entre 32 y 300  $\text{DL}_{50}$ , obteniéndose de esta manera las diluciones finales de 1:10, 1:50, 1:250, 1:500, 1:1250.

Las diluciones usadas para los sueros controles fueron de 1:1000, 1:2000, 1:4000, 1:8000; dándonos las diluciones finales de mezcla suero-virus: 1:2000, 1:4000, 1:8000, 1:16,000.

Las mezclas dilución de suero más virus, y los tubos control del antígeno viral en dilución  $10^{-4.7}$  a  $10^{-7.7}$  DL<sub>50</sub> fueron incubados a 37°C durante 90 minutos.

Después de la incubación las mezclas fueron colocadas en una bandeja de agua helada, hasta inocularlos intracerebralmente con 0.03 ml de mezcla suero-virus por ratón, en 6 a 10 ratones suizos blancos, de 3 a 4 semanas de edad. El control del antígeno viral, corrido en cada prueba consistió en inocular las diluciones  $10^{-4.7}$ ,  $10^{-5.7}$ ,  $10^{-6.7}$ ,  $10^{-7.7}$  DL<sub>50</sub> previamente incubadas a 37°C durante 90 minutos, en 10 ratones.

Los ratones fueron observados diariamente desde el siguiente a la inoculación. El número de ratones que se encontraban normales, enfermos o muertos, se registró en una tarjeta que se conserva en los archivos. Los síntomas observados en los ratones fueron los siguientes: a) pelo hirsuto, b) temblores al sostenerlos en el aire, por la cola, c) falta de coordinación en las patas traseras, d) parálisis, e) postración y coma. El período de observación fue de 21 días, calculándose el punto final como la supervivencia del 50% de los animales, por el método de Reed y Muench (27).

El título de anticuerpos neutralizantes en los sueros es expresado como el recíproco de la dilución final del suero que protege al 50% de los ratones inoculados.

El procedimiento anteriormente descrito solamente varió con las muestras tomadas antes de iniciarse la vacunación a los cuales solamente se les hizo una prueba pantalla, para observar si habían anticuerpos detectables a la dilución final de 1:2.

#### E) *Método empleado para calcular el poder neutralizante de los sueros*

El nivel de anticuerpos neutralizantes de cada suero, expresado como la dilución que protege al 50% de los animales inoculados, se obtuvo como se dijo anteriormente, por el método de Reed y Muench (27).



Se calcularon los sobrevivientes de cada dilución y se acumularon los resultados, asumiendo que un animal sobreviviente a una dilución dada, hubiera sobrevivido a una dilución inferior. Se estiman los porcentajes y se procede como sigue:

$$\text{Distancia} = \frac{\text{Sobrevivencia inmediata superior al 50\%} - 50}{\text{Sobrevivencia inmediata superior al 50\%} - \text{Sobrevivencia inmediata inferior al 50\%}}$$

$$\text{Log. punto final} = (\text{Distancia proporcional} \times \text{log. factor de dilución}) \text{ log. dilución inmediata superior de sobrevivencia al 50\%}$$

$$\text{Dilución del suero que protege al 50\%} = \text{Antilog. punto final}$$

La aplicación práctica de este método se ilustra con el siguiente ejemplo:

Suero N<sup>o</sup> 5:

Dil. suero	Ratones inocul.	Vivos	Muertos	Vivos	Muertos	Por ciento sobrevivientes
1:10	10	10	0	21	0	100
1:50	10	5	5	11	5	68
1:250	10	5	5	6	10	37
1:1250	10	1	9	1	19	5

$$\frac{68 - 50}{68 - 37} = \frac{18}{31} = .58 \times 0.07 = 0.406$$

$$68 - 37 = 31$$

$$\text{Log. } 50 = 1.6989 \quad \text{Antilog. } 2.1049 = 127.3$$

$$0.406$$

$$2.1049$$

$$\text{Título} = 1:127$$

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

La vacunación antirrábica presenta un caso único, ya que la inmunización se inicia después de la exposición a la enfermedad, siguiendo esquemas distintos de acuerdo a muy variadas circunstancias, tales como lugar de mordedura, conocimiento del animal mordedor, estado de inmunidad de la persona afectada, etcétera.

En los casos humanos de exposición a la rabia dos factores deben tomarse en cuenta con relación a la formación de anticuerpos. Estos son: a) la rapidez de su formación y b) el nivel que éstos alcancen.

Hay gran cantidad de estudios con relación a estos dos puntos, sin embargo han sido hechos en su mayoría con vacunas tales como: "Semple", "Fermi", "Flury" (HEP y LEP) y embrión de pato (VEP) (7, 8, 9, 15, 29). Los resultados obtenidos indican gran diversidad en la respuesta inmunológica pero se deben a diferencias en las rutas de inoculación empleadas, dosis administradas y fechas en que se obtuvieron las muestras; además se utilizaron lotes de vacunas de potencias relativamente diferentes.

Ya que el presente trabajo concierne a las vacunas producidas y usadas en Guatemala se le dará énfasis a los resultados obtenidos con la vacuna antirrábica humana producida en cerebro de conejo y de ratón lactante (CRL) inactivadas con luz ultravioleta.

En un estudio comparativo llevado a cabo en Chile por Fuenzalida y colaboradores (12) concluyeron que la vacuna CRL al 1% de tejido nervioso es tan potente como la mejor producida en cerebro de conejo. Potencia determinada en pruebas de protección en el ratón, así como su habilidad de producir anticuerpos en el humano.

Los resultados obtenidos por nosotros concuerdan con los de Fuenzalida, sin embargo las fechas de obtención de las muestras, así como otros detalles no han sido los mismos, por consiguiente, tratándose de fenómenos inmunológicos

donde concurren tantos factores las comparaciones son relativamente difíciles. Ver cuadros números 4 y 5 y gráfica número 1.

Como se dijo anteriormente, en una encuesta realizada con voluntarios del Centro Panamericano de Zoonosis, se encontró que la vacuna CRL produjo a los 21 días, anticuerpos con títulos de 1:180 en 10 personas que recibieron tres dosis con día de por medio, y 1:200 para los 9 que recibieron cinco dosis (11).

Nuestros resultados indican que en las 10 personas tratadas con vacunas CRL, a los 14 días, es decir, al finalizar el tratamiento antirrábico, la mediana para el título de anticuerpos fue de 1:125, con valores máximos y mínimos de 1:853 y 1:19, respectivamente. A los 30 días después de finalizado el tratamiento, la mediana fue de 1:264 y los extremos máximos y mínimos 1:487 y 1:46, respectivamente. Por último, a los tres meses de concluido el tratamiento, la mediana fue de 1:240, la máxima 1:1112 y la mínima 1:45. Estos resultados se resumen en el cuadro número 6.

El estudio de este cuadro nos demuestra una rápida producción de anticuerpos. Los valores tan extremos en los títulos reflejarían factores personales en la respuesta inmunogénica ya que esta tendencia se mantuvo a lo largo de los tres meses.

Los títulos más altos se encontraron entre los 14 días de iniciado el tratamiento y los 30 días después de terminado, datos que están de acuerdo con estudios de otros investigadores con otras vacunas (9, 11, 15). Este es el período en el cual una alta concentración de anticuerpos es exigente.

A los 90 días, después de terminado el tratamiento, los anticuerpos están en declinación con respecto a los 30 días. Estos resultados nos sugieren lo siguiente: la vacuna CRL en las dosis empleadas produce suficientes anticuerpos y con la rapidez necesaria en casos de exposición a la rabia, asumiendo que un nivel de anticuerpos de 1:100 confiera

protección. Además, indica que los anticuerpos rábicos tienden a declinar; por consiguiente una reexposición al virus rábico obligaría por lo menos a la administración de una dosis de refuerzo. Según Fuenzalida, media dosis produce en individuos previamente vacunados, niveles de anticuerpos superiores a la respuesta primaria, al cabo de 8 días (10).

En los individuos bajo estudio, la formación de anticuerpos no significa una respuesta anamnésica, ya que ninguno de ellos lo demostró en la prueba pantalla hecha antes de iniciar el tratamiento. En la gráfica número 2, pueden verse las curvas obtenidas con varios sueros, y las medianas del grupo.

En el cuadro número 7 se indican los resultados obtenidos con la vacuna de cerebro de conejo (CC) irradiada. La primera columna muestra los títulos de anticuerpos obtenidos a los 14 días de iniciada la vacunación, es decir, al terminar el tratamiento antirrábico. La mediana fue de 1:101, con un máximo de 1:500 comparado con 1:853 de la vacuna CRL y un mínimo de 1:5 en comparación con un 1:19. La mediana también fue superior en la vacuna CRL, con un valor de 1:124.

A los 30 días de terminado el tratamiento los anticuerpos han subido, con extremos de 1:706 y 1:13 y una mediana de 1:141, este título es más bajo que el 1:264 obtenido en la vacuna CRL; el análisis estadístico indica que no hay mayor diferencia entre las dos vacunas en este período. La segunda columna del cuadro número 7 contiene estos datos.

Asimismo, un estudio comparativo de los resultados a los tres meses, muestra una ligera alza con relación a la muestra de los 30 días, dándonos una mediana de valor 1:174. Estos valores se encuentran en la tercera columna del mismo cuadro número 7. La gráfica número 3, contiene las curvas comparativas obtenidas con ambas vacunas en sus valores máximo, mínimo y mediano.

Tomando en consideración que el número de muestras es bastante reducido, ya que fue solamente de 10 casos para cada tipo de vacuna, debido a problemas tales como inasistencia de las personas a vacunarse, deserciones, dificultades en la toma de muestras y limitaciones en el material de laboratorio como: jaulas, ratones, etcétera. Estos problemas son ajenos al personal de Sanidad Pública que colaboró en este trabajo. Se buscó un procedimiento estadístico que permitiera proyectar la muestra, para que representara el universo. La fórmula usada fue la siguiente:

$$r = \sqrt{1 - (1-r^2) \left[ \frac{(n-1)}{(n-2)} \right]}$$

En los resultados obtenidos a los 14 días con ambas vacunas, existe una correlación negativa significando que mientras una variable, la de CC disminuye, la de CRL aumenta, el resultado fue de  $-0.27$ , interpretándose que al haberse obtenido una cifra menor que 1, y que corresponde a la CRL, existe una significación en el muestreo llevado a cabo a los 14 días, en la que hubo una reacción rápida y efectiva mejor que la que se obtuvo con la vacuna de CC. Ver cuadro número 8.

En las pruebas comparativas llevadas a cabo un mes después de la inoculación de la última dosis de vacuna, la correlación que existe en este período es casi nula, ya que la prueba de significancia es casi 0, habiendo sido 0.03, lo cual se interpreta que las personas en estudio reaccionaron bien a la aplicación de las dos vacunas, no existiendo una diferencia de carácter significativo. Ver cuadro número 9.

De nuevo existe una correlación negativa con un valor de  $-0.54$ , a los tres meses en la cual se observa que una variable aumenta CRL y la otra disminuye CC, significando esto lo mismo que en el primer muestreo. Ver cuadro número 10.

Lamento no haber podido efectuar el estudio longitudinal, ya que creo sería recomendable llevarlo a cabo para obtener la respuesta inmunológica comparada de las dos vacunas en función del tiempo.

## VI. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se hizo un estudio en el Centro de Salud número 1 de Sanidad Pública, de esta ciudad, con personas tratadas con vacunas antirrábicas humanas producidas en Guatemala.

Se dividieron en dos grupos de 10 personas, recibiendo dos tipos de vacuna antirrábica, una vacuna preparada en cerebro de conejo (CC) y el otro con vacuna de cerebro de ratón lactante (CRL).

A todas las personas se les administró un tratamiento completo de 14 inyecciones en días sucesivos.

Se obtuvieron los sueros al iniciar el tratamiento, al finalizarlo, y a los 30 y 90 días después de terminado. En estos sueros se determinaron los anticuerpos neutralizantes antirrábicos por pruebas biológicas en ratón.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente.

Este es el primer estudio hecho en Guatemala que demuestra la efectividad de las vacunas antirrábicas determinadas por pruebas de laboratorio; asimismo, es el primer estudio comparativo de esta naturaleza en nuestro medio.

De los resultados obtenidos se sacaron las siguientes conclusiones:

1. La vacuna CRL estimula tan bien la producción de anticuerpos como la vacuna CC.
2. Las dos vacunas, CRL y CC, producen una cantidad de anticuerpos que garantizan un buen grado de protección.
3. Al término de 14 días la estimulación de anticuerpos fue más rápida significativamente en la vacuna CRL que en la vacuna CC.

En las pruebas efectuadas al mes de terminada la vacunación, no existió ninguna diferencia significativa en la estimulación de anticuerpos.

A los tres meses la producción de anticuerpos fue de nuevo significativamente mayor para la vacuna CRL.

4. Las complicaciones post-vacunales, excluidas las de tipo local, son menores con vacuna CRL que con la vacuna CC.

Por consiguiente, se recomienda continuar con estudios como el presente, para intensificar el uso de la vacuna CRL, y usarla en sustitución de la vacuna CC, mientras se obtienen en el futuro productos biológicos más avanzados.

## VII. CUADROS Y GRAFICAS

CUADRO N° 1

PERSONAS MORDIDAS, PERROS CON RABIA, PERROS VACUNADOS  
Y PERROS ELIMINADOS EN EL PERIODO 1958-1967

Año	Personas mordidas	Perros positivos a rabia	Perros vacunados	Perros eliminados
1958	1501	38	10,803	13,746
1959	2286	81	976	14,723
1960	2649	124	13,493	4,198
1961	2756	52	9,098	5,401
1962	4401	127	11,463	26,658
1963	4282	141	7,128	8,538
1964	4417	241	3,471	4,109
1965	4378	172	1,650	9,248
1966	4304	178	10,446	17,909
1967	4943	188	23,199	43,237

Datos obtenidos de archivos de la Dirección General de Sanidad Pública.



CUADRO N° 2

DISTRIBUCION DE LA POBLACION VACUNADA  
DE ACUERDO A LA EDAD

Edad: años	Número de personas	TIPO DE VACUNA	
		Cerebro de conejo	Cerebro de ratón lactante (CRL)
Menos de 9	6	4	2
10-24	10	5	5
25 o más	4	1	3
Total	20	10	10

CUADRO N° 3

DISTRIBUCION DE MORDEDURAS EN LAS PERSONAS  
DEL PRESENTE ESTUDIO

Personas afectadas	REGION MORDIDA		Contacto (sin mordedura)
	Extremidades superiores	Extremidades inferiores	
20	12	7	1

### CUADRO N° 4

OBSERVACIONES DEL NIVEL DE ANTICUERPOS EN TRES DIFERENTES ETAPAS, DESPUES DE TERMINADO EL TRATAMIENTO COMPLETO CON LAS VACUNAS CRL Y CC.

Datos de inoculación			Número total de personas	Número de personas con títulos de anticuerpos*				
Tipo vacuna	Dosis total y ruta	Días después trat.		4-7	8-31	32-127	128-511	511-1250
CC	28 ml S.C	0	10	1	-	5	4	-
		30		-	1	1	7	1
		90		-	-	2	6	2
CRL	28 ml S.C	0	10	-	2	4	3	1
		30		-	-	2	8	-
		90		-	-	2	7	1

\* Títulos recíprocos.

CUADRO N° 5

TITULOS DE ANTICUERPOS OBTENIDOS POR SUERO NEUTRALIZACION AL FINALIZAR A LOS 30 DIAS Y 90 DIAS EL TRATAMIENTO ANTIRRABICO

Tipo Vacuna	14 días		30 días		90 días	
	CC	CRL	CC	CRL	CC	CRL
Número Sujetos	10	10	10	10	10	10
PORCENTAJES						
Título						
1 - 25	10	10	10	—	—	—
25 - 100	40	30	—	20	20	20
Recíproco						
100o mayor *	50	60	90	80	80	80
Respuesta total	100	100	100	100	100	100

\* Títulos recíprocos.

INSTITUTO VETERINARIO Y ZOOLOGICO  
 DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
 SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA

CUADRO N° 6:

TITULO DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES ANTIRRABICOS DE PERSONAS VACUNADAS CON UN TRATAMIENTO COMPLETO DE VACUNA CRL.

TITULOS RECIPROCOS			
Identificación	Primera neutralización 0* días	Segunda neutralización 30* * días	Tercera neutralización 90* * días
Suero 4.....	133	145	199
Suero 5.....	127	322	493
Suero 6.....	853	345	1,112
Suero 7.....	19	46	75
Suero 9.....	123	294	258
Suero 12.....	148	315	342
Suero 15.....	58	173	277
Suero 16.....	78	235	217
Suero 21.....	27	88	71
Suero 22.....	332	487	220
Medianas.....	124	264	240

- \* Al terminar el tratamiento antirrábico.
- \* \* Días después de terminado el tratamiento de 14 inyecciones.

CUADRO N° 7

TITULO DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES ANTIRRABICOS DE  
PERSONAS VACUNADAS CON UN TRATAMIENTO COMPLETO  
DE VACUNA CC.

TITULOS RECIPROCOS			
Identificación	Primera neutralización 0* días	Segunda neutralización 30* * días	Tercera neutralización 90* * días
Suero 1.....	84	158	173
Suero 3.....	100	443	200
Suero 8.....	63	131	150
Suero 10.....	102	131	140
Suero 13.....	140	132	391
Suero 14.....	75	150	175
Suero 17.....	250	122	97
Suero 18.....	5	13	63
Suero 20.....	500	706	1,020
Suero 23.....	165	373	634
Medianas.....	101	141	174

- \* Al terminar el tratamiento antirrábico.
- \*\* Días después de terminado el tratamiento de 14 inyecciones.

CUADRO No. 8

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS VACUNAS CRL Y CC A LOS 14 DIAS

Nº de la observación	X Cerebro de conejo	Y Cerebro de rat. lact.	X conejo X-Mx	Y CRL Y-My	X <sup>2</sup> conejo X-Mx	Y <sup>2</sup> CRL X-My	X Y
1	84	133	- 64.4	- 56.8	4147.36	3226.24	3657.92
2	100	127	- 48.4	- 62.8	2342.56	3948.84	3039.52
3	63	853	- 85.4	663.2	7293.16	439834.24	56637.28
4	102	19	- 46.4	-170.8	2153.96	29172.64	7925.12
5	140	123	- 8.4	- 66.8	70.56	4462.24	561.12
6	75	148	- 73.4	- 41.8	5387.56	1747.24	3068.12
7	250	58	101.6	-131.8	10322.56	17371.24	-13390.88
8	5	78	-143.4	-111.8	20564.56	12499.24	16032.12
9	500	27	351.6	-162.8	123622.56	26503.84	-57240.48
10	165	332	16.6	142.2	275.56	20220.84	- 2360.52

37

$$\text{Conejo: } \bar{X} : \frac{1484}{10} : 148.4$$

$$\text{CRL : } \bar{X} : \frac{1898}{10} : 189.8$$

$$r : \frac{-9534.524}{34716} : -0.27$$

$$r : \frac{\sum XY/N}{\sum X \cdot Y}$$

$$r : \frac{-95345.24/10}{132.236}$$

CUADRO N° 9

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS VACUNAS CRL Y CC A LOS 30 DIAS

No. de la observación	X Cerebro de conejo	Y Cerebro de rat. lac.	X conejo X - Mx	Y CRL Y - My	X <sup>2</sup> conejo X - Mx	Y <sup>2</sup> CRL X - My	X Y
1	158	145	- 77.9	-100	6062	10000	7790
2	443	322	207.1	77	42850	5929	15946
3	131	345	-104.9	100	11004	10000	-10490
4	131	46	-104.9	-199	11004	35601	20875
5	132	294	-103.9	49	10795	2401	- 5091
6	150	315	- 85.9	70	7379	4900	- 6013
7	122	173	-113.9	- 72	12973	5184	8200
8	13	235	- 22.9	- 10	45684	100	2229
9	706	88	470.1	-157	220994	24649	-73805
10	373	487	137.1	242	18796	58564	-33178

36

Conejo :  $\bar{X} : \frac{2359}{10} = 235.9$

CRL :  $\bar{X} : \frac{2450}{10} = 245.0$

$r : \frac{\sum X Y / N}{\sqrt{\sum X^2 \sum Y^2}}$

$r : \frac{-7180/10}{\sqrt{197.127}}$

$r : \frac{718}{25019} = 0.03$

CUADRO N° 10

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS VACUNAS CRL Y CC A LOS 90 DIAS

Número de la observación	X Cerebro de conejo	Y Cerebro de Rat. Lac.	X conejo X - Mx	Y CRL Y - My	X <sup>2</sup> conejo X - Mx	Y <sup>2</sup> CRL X - My	X Y
1.....	173	199	-131	-124	17161	15376	16244
2.....	200	493	-104	170	10816	28900	- 17680
3.....	150	1112	-154	789	23716	622521	-121506
4.....	140	45	-164	-278	26896	77284	45592
5.....	391	258	87	- 65	7569	4225	- 5655
6.....	175	342	-129	19	16641	361	- 2451
7.....	97	277	-207	- 46	42849	2116	9522
8.....	63	217	-241	-106	58081	11236	25546
9.....	1020	71	716	-252	512656	63504	-180432
10.....	634	220	330	-103	108900	10609	- 33990

39

Conejo:  $\bar{X} = \frac{3043}{10} = 304$

CRL :  $\bar{X} = \frac{3234}{10} = 323$

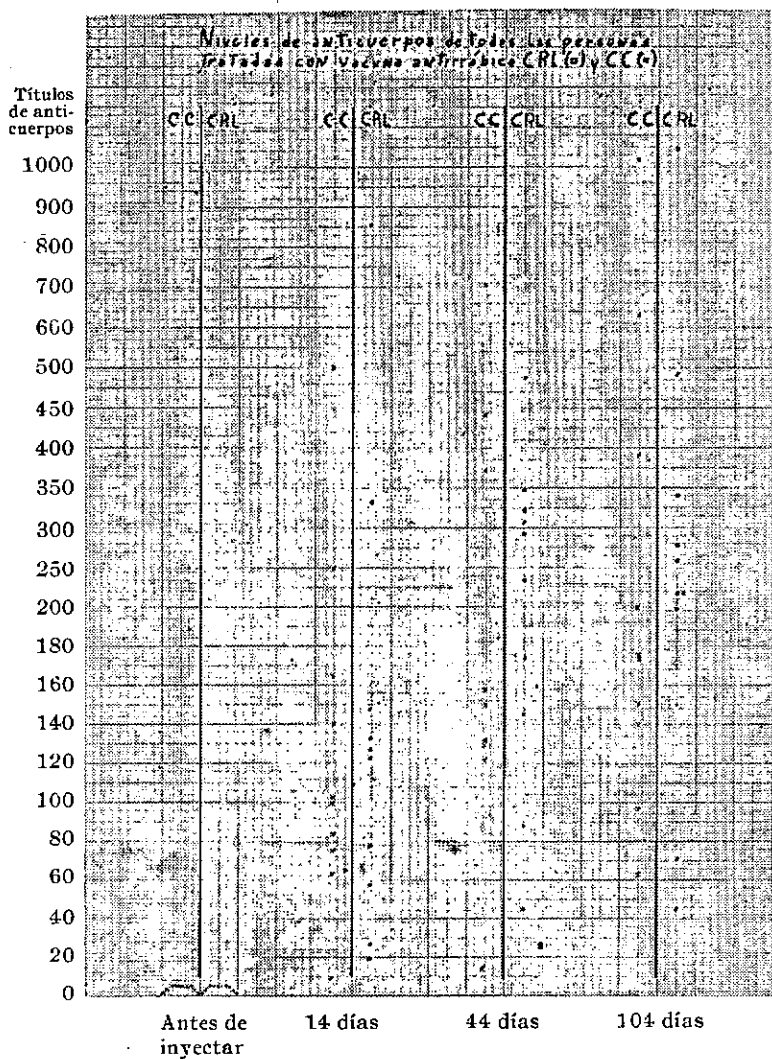
$r = \frac{\sum X Y / N}{\sqrt{\sum X \cdot \sum Y}}$

$r = \frac{-26481/10}{168.289}$

$r = \frac{-26481}{48552} = -0.54$

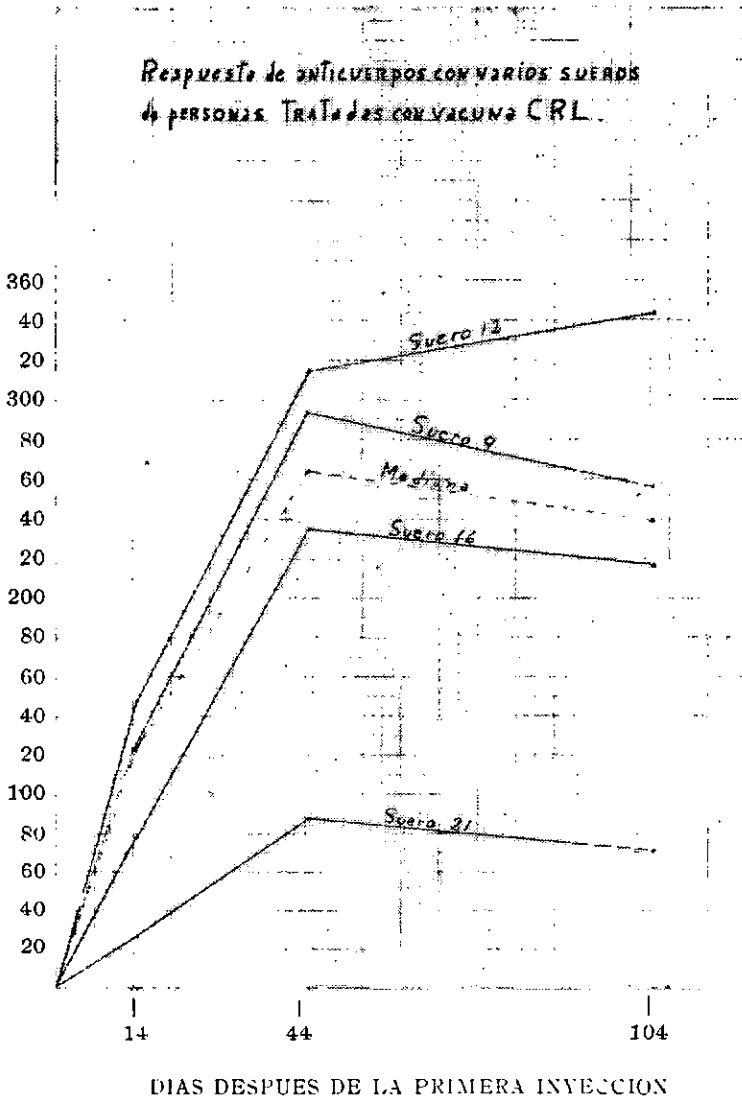


# GRAFICA N° 1

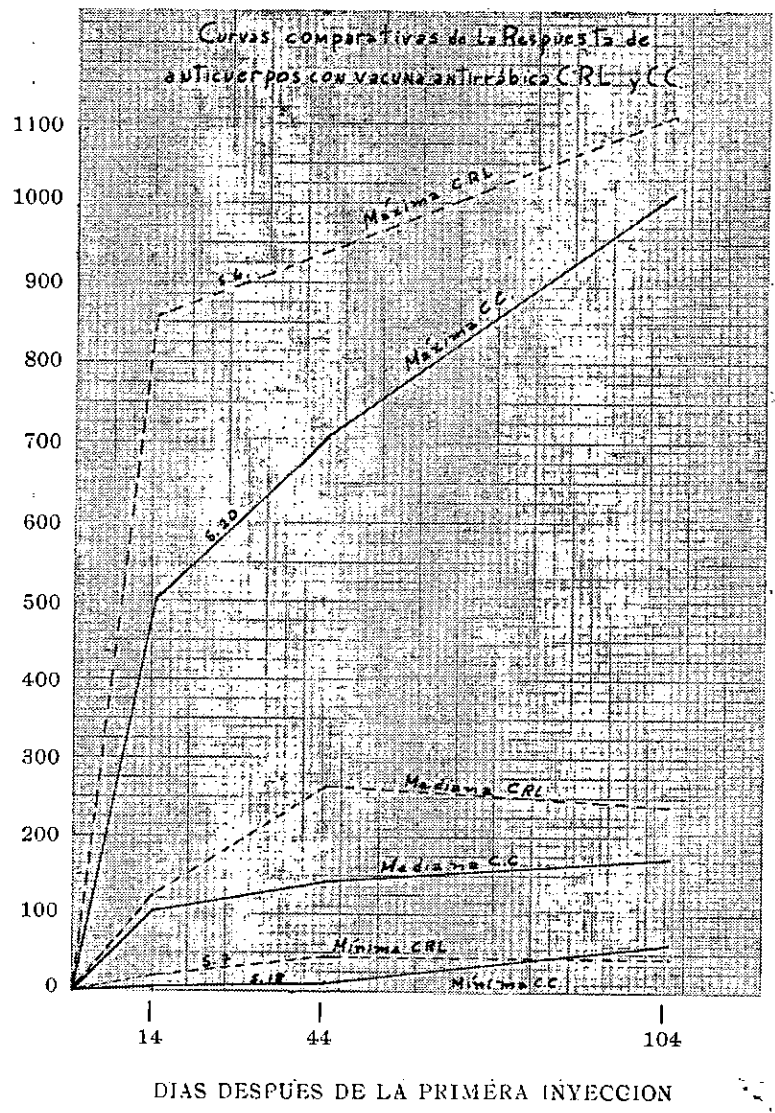


DIAS DESPUES DE LA PRIMERA INYECCION

GRAFICA N° 2



GRAFICA Nº 3



Biblioteca Central

### VIII. BIBLIOGRAFIA

1. ATANASIU, P.; CANNON, D. A.; DEAN, D. J.; FOX, J. P.; HABEL, H.; KAPLAN, M. M.; KISSLING, R. E.; KOPROWSKI, H.; LEPINE, P.; AND PEREZ GALLARDO, F.—*Rabies Neutralizing Antibody Response to Different Schedules of Serum and Vaccine Inoculations in non exposed persons: Part 3. Bull. World Health Organ.* 25:103-114, 1961.
2. ATANASIU, P.; DEAN, J.; HABEL, K. KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H.; LEPINE, P.—*Rabies Neutralizing Antibody Response to Different Schedules of Serum and Vaccine Inoculations in non exposed persons: Part 4. Bull. World Health Organ.* 36:361-365, 1967.
3. COHEN, DANIEL; TIERKEL, S. ERNEST; SIKES, K. ROBERT.—*Antibody Response to Rabies Booster Inoculation in Prophylactically Immunized Human Volunteers. Bull. World Health Organ.* (3) 31:426-428, 1964.
4. DEAN, D. J.; AND SHERMAN, L.—*Potency of commercial rabies vaccine used in man. Pub. Health Rep.* 77:705-710, 1962.
5. DIAZ, LUIS HUMBERTO; SANTAMARINA, GUILLERMO; UBIETO OTAL, AGUSTIN.—*Datos sobre la situación de la rabia en Guatemala. Salud Pub. Mex.* 4 (2): 247-251, 1962.
6. FIGUEROA URREA, JULIO.—*Complicaciones Neurológicas consecutivas al tratamiento antirrábico en Guatemala. Casos observados. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala.* 55 pp, 1966. (Tesis de Médico y Cirujano.)
7. FOX, J. P.—*Inmuno Prophylaxis of Rabies in Man. Rep. proceedings of the sixth international Congresses on Tropical Medicine and Malaria.* 5: 544-58, 1958.

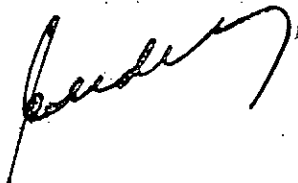
8. FOX, P.—*Prophylaxis Against Rabies in Humans*. Reprinted from *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 70 (3): 480-494, 1958.
9. FOX, J. P.; KOPROWSKI, H.; CONWELL, D.; BLACK, J.; GELAND, H.—*Study of Antirabies Immunization of Man*. *Bull. World Health Organ.* 17: 869-904, 1957.
10. FUENZALIDA, E.—*Comunicación personal a Richter, F.*, 1968.
11. FUENZALIDA, E.—*Estado actual de desarrollo de la vacuna antirrábica preparada de cerebros de ratones lactantes en Latinoamérica; XVIII Congreso Mundial Veterinario. Ponencias y Comunicaciones*. Paris. 1: 223-226, 1967.
12. FUENZALIDA, E.; PALACIOS, R.; y BORGOÑO, J. M.—*Antirabies antibody response in man to vaccinemade from infected suckling-mouse brains*. *Bull. World Health Organ.* 30 (3): 431-36, 1964.
13. FUENZALIDA, E. PALACIOS, R.; y BORGOÑO, J. M.—*The use of Rabies Vaccine prepared in suckling-mouse brains*. *International Symposium on Rabies. Symp. Series Immunobiol. Standard* 1: 339-345, 1965.
14. FUENZALIDA, E.; y PALACIOS, R.—*Un método mejorado en la preparación de la vacuna antirrábica*. *Inst. Bact. Chile* 8 (1-4): 3-9, 1955.
15. GREENBERG, M.; CHILDRESS, J.—*Vaccination Against Rabies with Duck Embryo and Semple Vaccines*. *J. A. M. A.* 173: 333-337, 1960.
16. GUATEMALA.—*Archivos del Centro de Salud N° 1, Sanidad Pública*. 1958- 1968.
17. HABEL, KARL.—*Ultraviolet irradiation in production of potent antirabies vaccine*. *U. S. Pub. Health Rep.* 6a.: 791-880, 1947.
18. KAISER, HAROLD B.—*Unusual reaction to rabies vaccine*. *J. A. M. A.* 193 (5): 369-370, 1965.
19. KEITH, R.; LARGHI, O. P.—*Purified Rabies Vaccine of Mouse Brain Origin*. *National Rabies Symposium, N. C. D. C.* p. 15, 1966.
20. KISSLING, R. E.—*(Introduced by Morris Schaeffer). Growth of Rabies Virus in Non Nervous Tissue Culture*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98 (2) 223-225, 1958.

21. KISSLING, R. E.; & REESE, D. R.—*Anti Rabies Vaccine of Tissue Culture Origin*. *J. Immunol.* 91: 362-368, 1963.
22. MC QUEEN, J.; LEWIS, A.; SCHNEIDER, N.—*Rabies Diagnosis by Fluorescent Antibody*. *Am. S. Pub. Health.* 50: 1743-1752, 1960.
23. OFICINA SANITARIA PANAMERICANA.—*Conferencia Internacional sobre la rabia*. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.* 33 (4): 367-368, Oct. 1962.
24. OFICINA SANITARIA PANAMERICANA.—*Técnicas de laboratorio aplicadas a la rabia*. *Washington, Ofic. Sanit. Panam. PP.* 87-137 (Publicaciones científicas N° 23): Dic. 1956.
25. PEK JR., FRANKLIN; ROWELL, M. HORACE; GULBERTSON, G. CLYDE.—*Duck-Embryo Rabies Vaccine*. *J. A. M. A.* 162: 1373-1376, 1956.
26. PENEDO, ENRIQUE.—*Breves consideraciones sobre la rabia en Guatemala*. *Bol. Sanit. Guatemala*, 5 (41): 827-872, 1934.
27. REED, L. J.; AND MUECH, H.—*A simple method of estimating fifty per cent end-points*. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497, 1938.
28. RICHTER, F.; ANDRINO, L.—*Rabia Bovina en el departamento de Guatemala*. Reimpreso de la *Rev. Col. Med. Guatemala*. 16: 178-80, 1965.
29. SCHNURRENBERGER, P.; ANDERSON, G.; RUSSEL, J.; WENTWORTH, F.—*Avian Embryo Immunization. II A comparison of the antigenicity of High Egg-passage and Duck Embryo Vaccines administered intradermally in man*. *Rep. Am. J. Hyg.* 74 (1): 1-6, 1961.
30. SCHWAB, M. P.; FOX, J. P.; CONWEL, D. P.; ROBINSON, T. A.—*Avianized Rabies Virus Vaccination in Man*. *Bull. World Health Organ.* (N° 5) 10: 823-835, 1954.
31. SHARP, J. C.; MC DONALD, S.—*Effect of Rabies Vaccine in Man*. *Brit. Med.* 3: 20-21, 1962.
32. TEXT BOOK OF MICROBIOLOGY.—*Eighteenth Edition Burrows W.* pp. 1082-1088.

33. VACUNAS HUMANAS DE VIRUS Y RICKETTSIAS.—*Serie de informes técnicos N° 325. O. M. S. pp. 33-36, 1966.*
34. WHO EXPERT COMMITTEE ON RABIES.—*Fifth Report. World Health Organ. Techn. Rep. Ser. 321, 1966.*

YVETTE SINIBALDI HUMPHREY.

Visto bueno:



Dr. JULIO PAREDES.

Imprímase:



Lic. RAFAEL LETONA,  
Decano.

Esta Tesis se imprimió el 19  
de octubre de 1968, en los  
talleres de la Tipografía  
Nacional de Guatemala,  
Centro América.