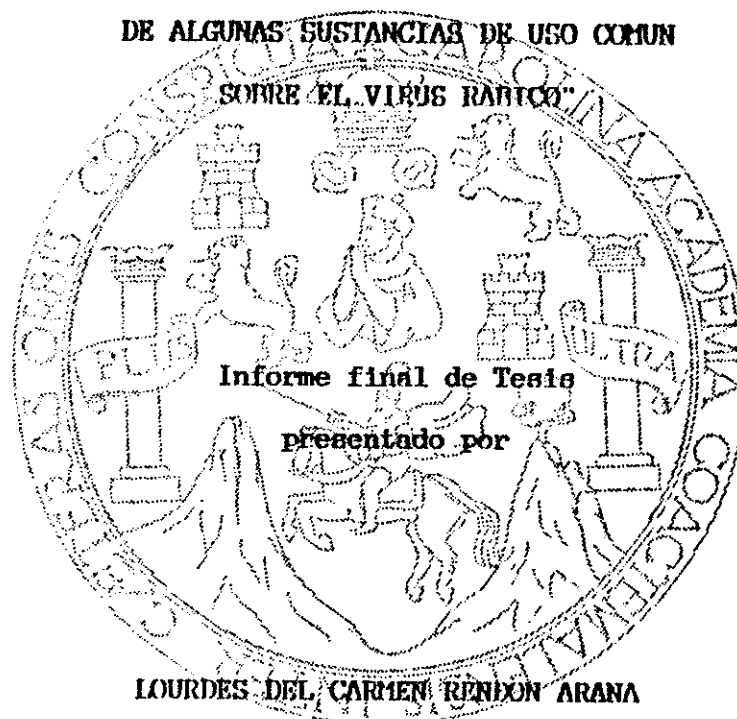


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

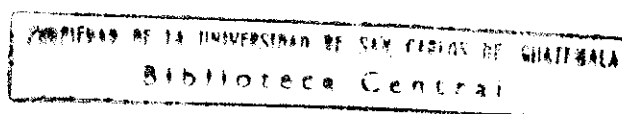
"DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD VIRICIDA *in vivo*
DE ALGUNAS SUSTANCIAS DE USO COMUN



LOURDES DEL CARMEN RENDON ARANA

Para optar al título de:

QUIMICO BIOLOGO



Guatemala, Septiembre de 1995.

100
21/1/85
J.S

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

Decano: Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Secretaria: Licda. Eleonora Gaitán Izaguirre
Vocal Primero: Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
Vocal Segundo: Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Vocal Tercero: Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume
Vocal Cuarto: Br. Ana María Rodas Cardona
Vocal Quinto: Br. Hayro Oswaldo García García

ACTO QUE DEDICO

- A Dios Que iluminó mi vida y me dió la dicha de llegar hasta este feliz momento.
- A mis Padres * Hector Alfonso Rendón Mendoza
Que mi triunfo sirva como una ofrenda, pues aunque esté ausente, vive en nuestra mente todos los días de nuestra vida.
- * María del Refugio Arana de Rendón
Que Dios la bendiga por sus esfuerzos que me han permitido llegar a donde me encuentro.
- A mi Esposo Hector Ovidio Ordoñez
Con mucho amor, por su comprensión y apoyo.
- A mis Hijos Evelyn Beatriz
Hector Ovidio
Lourdes Carolina
- A mis Hermanos Pedro Alfonso
Blanca Beatriz
Hector Daniel
Telma Roxana
Rosita
Hector Rafael,
Javier, con cariño.
- A mis Tíos y Tías María del Carmen, Margarita, Celia Concepción, María Hercilia, Berta Arana, Ricardo, Víctor Manuel.
- A mis Primos
- A mis Sobrinos
- A mis Padrinos
- A mis Amigos y Compañeros

DEDICO ESTA TESIS

A MI PATRIA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A MI ASESOR: Rina Paz de Rosal.

AGRADECIMIENTOS

- * A todas las personas que me ayudaron a que esta investigación se realizara.

- * Al personal del Laboratorio Biológico de la Dirección General de Servicios de Salud; en especial al Sr. Enrique Arbizú quien contribuyó enormemente.

- * Al personal del Laboratorio Clínico del Hospital General "San Juan de Dios".

- * A mis compañeras de trabajo con especial aprecio Luz Marina Ramírez Cruz por el apoyo brindado.

- * Al personal de la Sección de Serología con especial aprecio a la Licda. Liliana Vides.

INDICE

	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
3.1 Etiología	3
3.1.2 Clasificación del virus	3
3.1.3 Propiedades del Virus	5
3.1.4 Estructura	6
3.1.5 Envoltura	6
3.1.6 Nucleocápside	8
3.1.7 Forma y tamaño.....	10
3.1.8 Síntesis de Proteínas virales	10
3.1.9 Composición antigénica	11
3.2 Patología	14
3.2.1 Historia de la enfermedad	14
3.2.2 Enfermedad en el hombre	15
3.2.3 Respuesta Inmune	19
3.2.4 Tratamiento	20
3.2.5 Profilaxis	21
3.2.6 Epidemiología.....	22
4. Justificaciones.....	25
5. Objetivos	26
6. Hipótesis	27
7. Materiales y Métodos	28
7.1 Universo del trabajo	28
7.2. Recursos humanos	28
7.3 Recursos institucionales	28

7.4	Recursos materiales	29
7.5	Procedimiento.....	30
8.	Resultados	34
9.	Discusión de Resultados	36
10.	Conclusiones	37
11.	Recomendaciones	38
12.	Referencias	39
13.	Anexos	44

1. RESUMEN

El presente estudio compara la respuesta del virus rábico frente a tintura de yodo, jugo de limón, mercurio cromo al 2%, detergente, jabón de baño, alcohol isopropílico al 70%; que son sustancias utilizadas como medida de primeros auxilios, en casos en que los pacientes son atacados por animales rabiosos, y no cuentan con la vacuna antirrábica.

Estas sustancias en su presentación original, se enfrentaron a una dilución de virus estandarizado, en la cual se utilizaron 20 dosis letales, capaces de producir la enfermedad rábica, estas sustancias fueron aplicadas, en heridas semejantes a las ocasionadas por mordedura de animal rabioso, después de los cuales fueron identificados los animales inoculados, y sometidos a observación durante un período de 21 días, en cada uno de los ensayos de las seis sustancias trabajadas se llegó a la obtención de resultados, los cuales reflejan que ninguna sustancia de las enfrentadas al virus es capaz de evitar que se desarrolle la enfermedad rábica y que sigue siendo la vacunación una medida inmunoproláctica necesaria, para contrarrestar la enfermedad rábica.

2. INTRODUCCION

La rabia es un enfermedad viral que sigue teniendo alto grado de importancia en la actualidad, pues aunque se ha logrado controlar a nivel urbano existen muchos animales en el campo los cuales son afectados por esta infección, y que son la fuente primaria de la transmisión al hombre.

La enfermedad ataca el sistema nervioso y conduce a la muerte, sin embargo, utilizando medidas adecuadas y dependiendo de la severidad de la lesión es posible prevenirla.

Se ha utilizado algunas sustancias de uso común como medida de primeros auxilios en los casos en que las personas han sido atacadas por un animal con rabia, se tiene duda respecto a la acción que puedan ejercer estas sustancias sobre el virus *in vivo*.

El presente estudio tiene como fin conocer la respuesta del virus rábico; frente a ciertas sustancias que han venido siendo utilizadas en heridas ocasionadas por mordedura de animal rabioso; se enfrentó el virus en sus dosis letal, con las sustancias a ser evaluadas: alcohol isopropílico al 70%, merbromina; jugo de limón; detergente, jabon de baño y tintura de yodo en su presentación original.

Los ensayos fueron realizados en ratones de tipo albino suizo cepa CD; de 3-4 semanas de edad, sin importar el sexo. Después de la inoculación se observó durante un período de 21 días y se anotaron los cambios de conducta de los ratones, y se obtuvieron los resultados de muerte o sobrevivencia (+ ó -).

3. ANTECEDENTES

3.1 VIRUS DE LA RABIA

3.1 ETIOLOGIA

El virus rábico pertenece al género Lyssavirus, familia Rhabdoviridae. Hasta fines del decenio de 1960 se pensaba que, tanto desde el punto de vista serológico, el virus rábico constituía una entidad completa. Sin embargo, el aislamiento y la identificación en Africa de varios virus semejantes al rábico que producen enfermedades similares a la rabia, han modificado este concepto y planteado interrogantes acerca de las relaciones que guardan entre si los componentes del grupo de virus rábico (Lyssavirus) y de su diagnóstico diferencial, especialmente las cepas atípicas. Así el conocimiento de las propiedades fisicoquímicas y biológicas de estos virus, incluyendo su antigüedad, proporciona la base para el diagnóstico diferencial y facilita el control de la rabia y de las enfermedades semejantes a ésta. <1>

3.1.2 CLASIFICACION DEL VIRUS

El virus rábico pertenece al género Lyssavirus, familia Rhabdoviridae. El género se identifica con varios serotipos:

3.1.2.1 Serotipo 1:

CVS (Challenge Virus Standard, Cepa Prototipo de virus rábico patrón de prueba) Incluye la mayor parte de los virus

encontrados y de las cepas de laboratorio de los distintos países, así como los aislados por primera vez en roedores en Europa Central. <1,2>

3.1.2.2 Serotipo 2:

Virus Murciélagos lagos (Lagos Bat Virus o LBV), aislado de tres especies de quirópteros frugívoros en Nigeria, República Centroafricana y Sudáfrica <3-5>.

3.1.2.3 Serotipo 3:

Virus Mokola (MOK), aislado de Musarañas Africanas (Crocida spp.), de dos casos humanos y más recientemente de gatos y un perro (Foggin, 1983), en Nigeria, Camerún y Zimbabwe <3,4>.

3.1.2.4 Serotipo 4:

Virus Duvenhage (DUV), aislado de un hombre mordido por un murciélago en Sudáfrica <3>.

3.1.2.5 Serotipo 5:

Virus Kotonkan (KON), aislado de culicoides en Nigeria <3>.

3.1.2.6 Serotipo 6:

Virus Obodhiang (OBOD), aislado de Mosquitos *Mansonia Uniformis* (nombre científico) en Sudán <1,3>.

Los serotipos 2,3,4,5,6, reciben la denominación de: virus relacionados con el de la rabia. Ninguno de estos virus afines al rábico parecen por ahora tener mucha importancia epidemiológica, si bien MOK Y DUV han causado algunos casos de enfermedad humana y muerte.

El virus KON causa, según parece una enfermedad en bovinos similar a la fiebre efímera bovina <3>.

Los virus relacionados con el rábico pueden presentar cierto grado de reacción cruzada con las prueba de inmunofluorescencia y fijación de complemento los serotipos MOK y LBV producen cuerpos de negri <3>.

3.1.3 PROPIEDADES DEL VIRUS

El virus rábico es sensible a: la ebullición, se inactiva a los 15 minutos de calentamiento a 70 c. <6>, o a 56 durante 30 a 60 minutos <7>; las radiaciones ultravioleta destruyen rápidamente el virus, la pasteurización, disolventes de la grasa (solución de jabón, éter, cloroformo y acetona), etanol al 45-70%, preparados yodados, cloruro mercúrico, formol, ácido y bases, amonio cuaternario <7>.

El fenol, cloroformo y el éter son eficaces, pero requieren mucho tiempo para inactivar al virus. El ácido nucleico es fácilmente inactivado por la B-propiolactona <7>.

El virus es resistente a la desecación, congelación, descongelación repetidas <8> y es estable en un pH de 7.4 a 9.0 <9>. La liofilización <1> conserva el virus, pero la desecación lenta lo destruye. Las sulfonamidas, penicilina y estreptomina <2> no lo afectan y suelen usarse para aislarlo a partir de productos contaminados <10>.

Se conserva en glicerina al 50% por un año y en congelación por más tiempo <11,12>.

3.1.4 ESTRUCTURA

El virus está constituido por una molécula ARN monocatenario, complementaria al ARN mensajero, rodeada por una cápside proteínica <3>.

El complejo nucleocapsídico se encuentra rodeado por una envoltura lipoproteínica compuesta por doble capa lipídica y proteínas de envoltura <13>.

3.1.5 ENVOLTURA

La envoltura puede invaginarse en el extremo plano de la partícula determinando lo que se denomina canal axial. En ocasiones, puede formar un apéndice vesicular en esa misma zona.

El virón presenta en su superficie proyecciones espiculares, cuyo grosor oscila entre 6 y 8 nm, que terminan distalmente en forma de botón y que no cubren el extremo plano de virón. Mediante técnicas de tinción negativa se observa que las espículas aparecen distribuidas al azar o bien ordenadas en hilera en forma de panal de abejas, reflejando una simetría subyacente <13>.

Se ha considerado tradicionalmente que la envoltura del virus rábico presenta tres proteínas, las que fueron identificadas por electroforesis en gel de poliacrilamida. La glicoproteína (G) aparece asociada a las proyecciones espiculares, y es la única proteína superficial. Las otras dos proteínas de envoltura son M1 y M2. Todas ellas han sido exhaustivamente estudiadas y sus pesos moleculares y proporciones relativas determinados por distintos autores. Se

asigna a esta proteína un peso molecular que varía ligeramente según la cepa de virus de que se trate y el método de purificación utilizado, y que oscila para G entre 80,000 y 65,000 D, para M1 entre 43,000 y 37,000 D y para M2 entre 25,000 y 20,000 D <14-16>.

Zaides en 1979 <15> sugirió por primera vez que M1 es una proteína asociada a la nucleocápside y no a la envoltura y la denominó entonces NS (seroneutralización), por analogía con la del virus de la estomatítis vesicular (VSV). Estudios recientes realizados confirman la teoría de que la proteína M, estaría en realidad asociada al complejo nucleocapsídico y no a la membrana, como se creía. Esto se deduce de estudios efectuados por electroforesis en gel de poliacrilamina en presencia de dodecilsulfato de sodio, (SDS-PAGE) y por técnicas de inmunoprecipitación mientras que los esfuerzos por visualizarla en la superficie de las células infectadas, tanto por inmunofluorescencia como por inmunoelectromicroscopía, han sido infructuosos. Se trata de una proteína fosforilada, que se resuelve por corrida SDS-Page en dos especies, una altamente fosforilada y la otra menos con pesos moleculares de 42,000 y 38,000 respectivamente.

De acuerdo a estos hallazgos, las proteínas de membrana serían solamente dos, M2 o simplemente M y G. Se considera que M podría tener una función durante el proceso de brotación; el análisis triptico de los péptidos que la componen muestra considerables diferencias dentro de un mismo serotipo

La glicoproteína aislada de virus rábico cultivado en

células BHK 21 contiene 2.9% de carbohidratos, que son: manosa, galactosa, N-acetilglucosamida, acidoneuramínico y fucosa. Presenta tres cadenas de oligosacáridos de diferentes pesos moleculares 3400, 2800 y 2500 D, respectivamente.

El contenido de ácido siálico en la glicoproteína del virus rábico puede variar de acuerdo a las condiciones de crecimiento, siendo menor en virus que multiplican a 37°C que en los que replican a 33°C pero siempre hay al menos una molécula de ácido siálico en cada cadena poliosídica <17,18>.

La glicoproteína es la proteína espicular, se proyecta fuera de la membrana viral y puede ser importante en el proceso de adsorción en el ciclo infectivo <19,20>.

La envoltura del virus rábico contiene un 24% de lípidos, siendo el colesterol el más abundante; esfingomielina, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina los ácidos grasos en mayor proporción son el palmítico, esteárico y oleico <21,22>.

3.1.6 NUCLEOCAPSIDE

La nucleocápside esta compuesta por una capa proteínica y el ácido nucléico viral. Presenta aspecto estriado, lo que se debe a una cadena ribonucleoproteínica que da unas 20 a 35 vueltas, formando un cilindro de 50 nm, de ancho y aproximadamente 165 nm de largo. La periodicidad es de 4.5 nm sin embargo, la nucleocápside de ciertas preparaciones de partículas infectivas puede ser más corta y con menor número de vueltas <23,24>.

Se ha detectado por separación de geles de poliacrilamida que la nucleocápside del virus rábico contiene un polipéptido mayor, la proteína N y otro menor, la proteína L. La proteína N es fósforilada, su peso molecular puede oscilar entre 54,000 y 62,000 D según la cepa de virus estudiada y el tratamiento de purificación utilizado <14-16>.

Representa del 30% al 34% del total de proteínas virales. Al estudiar esta proteína en distintas cepas de virus rábico SDS-Page no se observó diferencias significativas. El análisis tríptico de los péptidos también mostró gran similitud entre las cepas que pertenecen al mismo serotipo y aquellas que pertenecen a distinto serotipo <25,26>.

La proteína L fue descubierta en 1977 por England y Madore <22>. Se encuentra en baja proporción y su peso molecular es de aproximadamente 200,000. Diestzschold y colaboradores, demostraron que las cepas de virus HEP y ERA contienen 17 y 37 moléculas por virón, respectivamente; mientras que las cepas CVS y PM contienen 150 y 104 moléculas por virón respectivamente. Se cree que L existe en estrecha asociación con la transcriptasa viral <27,28>.

El genoma viral está compuesto por ácido Ribonucleico de cadena simple; su densidad en S04Cs es de 1.36 g.cm. El ARN es negativo, lo que evidencia porque no es infeccioso, porque se detecta transcripción primaria en presencia de cicloheximida y porque en el citoplasma de células infectadas aparecen cadenas de ARN cortas, y complementarias del genoma <29,30>.

Hallazgos recientes evidencian que el ARN viral tiene un coeficiente de sedimentación de 42 S y un peso molecular de 3.83×10^6 D <24>. En corrida en gel de urea ácida emigra con el ARN del virus de la estomatitis vesicular, cuyo PM fuera establecido en $3.82 (+ -) 0.14 \times 10^6$ D <25>. Previamente el PM del virus rábico había sido calculado en 4.6×10^6 D por sus propiedades de sedimentación en gradientes de sacarosa <31>.

3.1.7 FORMA Y TAMAÑO

Presenta forma de bala con un extremo cónico y el otro plano, el tamaño promedio 180 por 75 nm. Este tamaño puede variar según la cepa y las condiciones de replicación.

3.1.8 SINTESIS DE PROTEINAS VIRALES

Se ha logrado establecer la codificación de las proteínas virales: cada una de las cuales tiene el mismo orden y es de 3' a 5' N-M (n5) M2 (M)-L.

Los genes que codifican la glicoproteína no han logrado ubicarse; pero se estimaron que podrían hallarse entre M y L. De ser así; el mapa genético del virus rábico resultaría muy similar al del virus de la estomatitis vesicular.

Wunner en 1980 <32>, logró la traducción de proteínas virales en oocitos de *Xenopus laevis* por la microinyección de distintos ARNm obtenidos de células BHK:21:13 D infectadas con virus de la cepa ERA y posteriormente separados en gradientes de sacarosa. Identificó las proteínas obtenidas por inmunoprecipitación con anticuerpos monoclonales antiglicoproteína y antinuclocápside. Se confirmó así una vez más la

síntesis independiente de las distintas proteínas a partir de ARN monocistrónico.

Se determinó recientemente la secuencia de aminoácidos de la glicoproteína del virus de la cepa ERA por clonado en plásmido pBR322 en *Escherichia coli* K 12 (x 1776) de un ADNc derivado del ARNm, que la codifica. Obtuvieron un polipéptido de 524 aminoácidos de los cuales los 19 primeros presentan probablemente un polipeptido señal. La proteína sintetizada presenta una zona altamente hidrofóbica entre los residuos 440 y 461. Los autores sugieren que la región que abarca desde el residuo 440 hasta el extremo carboxiterminal constituiría el dominio de transmembrana. Pudieron localizar así mismo, cuatro sitios aceptores de carbohidratos, tres de los cuales se localizan hacia el extremo aminoterminal del segmento de transmembrana propuesto. Por otra parte, se han encontrado en la capa ERA tres cadenas de carbohidratos, lo que concuerda con los sitios aceptores propuestos, excepto el que se encuentra en el dominio citoplasmático <33>.

3.1.9 COMPOSICION ANTIGENA

Las partículas de virus presentan dos grupos antigénicos principales. El primero, asociado a la superficie viral, está constituido por la glicoproteína y el segundo por la nucleoproteína interna. La glicoproteína, asociada a proyecciones espiculares en la superficie externa del virión, es el antígeno principalmente responsable de la infectividad, la actividad hemaglutinante y la formación de anticuerpos neutralizantes (específicos de serotipo), así como de conferir

inmunidad frente a la infección letal por virus rábico <34>.

La formación de anticuerpos inmunoprecipitantes e inmunofluorescentes y el 77% de la actividad fijadora de complemento están relacionados en cambio con el antígeno ribonucleoproteínico, el cual es específico de grupo, común a todos los virus rábicos <17,35>.

Dada la importancia de la glicoproteína del virus como antígeno protector, se han hecho numerosos esfuerzos para aislarla y purificarla. Mediante el tratamiento del virus con tritón X-10 Dietzschold, Cox y colaboradores, tuvieron éxito en ese intento. La glicoproteína resultante fue antígeno pero perdió su capacidad hemaglutinante.

Posteriormente, consiguieron intercambiar el tritón X-10 por un detergente no iónico fácilmente eliminable por diálisis, lo cual les permitió recuperar la actividad hemaglutinante y obtener un antígeno de capacidad protectora comparable a la de una vacuna de virus inactivado <36>. Sin embargo, la respuesta inmunológica es mayor que la de las vacunas de viriones completos, lo que podría deberse a la mayor complejidad conformacional de éstos, posiblemente por la asociación de G a los lípidos de membrana <32>.

Recientemente, utilizando la ingeniería genética, se estableció la secuencia de aminoácidos de la glicoproteína. Gracias a este conocimiento y al desarrollo de la técnica de anticuerpos monoclonales, se están conociendo los determinantes antigénicos de la glicoproteína. Con esta técnica se

pueden detectar diferencias antigénicas tan pequeñas como las resultantes del cambio de un único aminoácido en la secuencia total, pudiendo éste afectar drásticamente la infectividad del virus.

Estudios recientes por digestión de la glicoproteína con bromuro de cianógeno, permitieron determinar que tres de los péptidos obtenidos en condiciones reductoras son capaces de inducir la presencia de por lo menos tres epitopos a los que se unen los anticuerpos <17>.

Se estudió la capacidad de neutralización de distintas cepas de virus mediante una batería de anticuerpos monoclonales antiglicoproteína. Sobre la base del espectro de neutralización obtenido, se diseñó un mapa funcional de los determinantes antigénicos de la glicoproteína. Establecieron para el virus CVS la existencia de tres sitios antigénicos principales, de los cuales el II y III estarían muy próximos entre si y serían de carácter complejo, con tres y dos subregiones antigénicos respectivamente. Un análisis similar realizado por los mismos autores con la cepa ERA, evidenció la existencia de variantes antigénicas que se localizaron en los sitios I, II y III detectados para CVS; no obstante, es poco lo que hasta ahora se sabe al respecto.

Actualmente se está trabajando para esclarecer que péptidos de los obtenidos con bromuro del cianógeno corresponde a cada sitio antigénico hallado.

En sobrenadantes de cultivos infectados con virus rábico, suele encontrarse un glicoproteína soluble (Gs) de

peso molecular 61,000, por lo que era de interés establecer si constituía un buen inmunógeno. Dietzhold, en 1983, <33> demostró en forma concluyente que la secuencia de aminoácidos es idéntica a la de la glicoproteína, faltándole solamente un fragmento de 58 aminoácidos en el extremo carboxiterminal. Si bien G_s se une a los anticuerpos monoclonales dirigidos contra los cuatro epitopes de la glicoproteína de la cepa ERA, su actividad protectora frente a infección letal por virus rábico es muy baja. Esta limitada inmunogenicidad muy probablemente se deba a la mayor solubilidad de G_s con respecto a G y a su incapacidad de formar agregados. Otra explicación posible sería que el fragmento hidrofóbico ausente en G_s ejercería un efecto adyuvante en la respuesta inmunitaria <33>.

3.2 PATOLOGIA

3.2.1 HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

La rabia es una enfermedad aguda que ataca a los mamíferos y que se conoce desde la más remota antigüedad.

Las primeras epizootias datan de la edad media. Desde entonces, persiste como enzootia en distintas partes del mundo; la rabia es endémica en casi todos los países del mundo con excepción de Japón; Irlanda; Gran Bretaña, países bajos; Bulgaria; España; Portugal. En las Américas no se registran casos en Uruguay, Barbados, Jamaica y otras islas del Caribe <28,29>.

Los avances en el conocimiento de la enfermedad fueron sumamente lentos. En el año 1908, Zinke demostró que la rabia

se transmitía por la saliva de animales enfermos. Fueron Pasteur, Roux y Chamberland quiénes entre los años 1881 y 1885 modificaron el curso de la historia de la enfermedad con el descubrimiento de que el material proveniente del SNC de animales enfermos es infeccioso y de los períodos de incubación se acortan notablemente cuando se inyecta material infeccioso por vía intracerebral en animales sanos, estos aportes fueron los antecedentes inmediatos y decisivos de la primera vacuna antirrábica.

A pesar de los aportes de este grupo, no fueron ellos quiénes descubrieron el agente causal. En 1903 Remlinger consiguió reproducir la enfermedad en conejos con material filtrado de cerebros de perro y conejos rabiosos, fue entonces cuando se reconoció que el agente era un virus.

Otros aportes dignos de mención es el hallazgo de Negri, quién en 1903 distinguió corpúsculos que llevan su nombre y que actualmente tienen significación diagnóstica y la introducción por Webster y Daeson, del método de inoculación de material infeccioso por vía intracerebral en ratones con fines diagnósticos <15,16>

3.2.2 ENFERMEDAD EN EL NOMBRE

Toda persona que entre en contacto con un ambiente en el que se maneje virus rábico se considera expuesto. En el año 1962 Constantine <30> demostró experimentalmente la infección por vía aerógena, en el curso de sus investigaciones en cuevas de murciélagos en el estado de Texas, se

sugirió que este modo de transmisión de la enfermedad contribuye a la persistencia de la infección por virus rábico en poblaciones de murciélagos, a la diseminación del virus a animales salvajes que frecuentan sus cuevas, e inclusive podrían en ocasiones ser la causa de infecciones en humanos.

La infección por virus rábico se produce habitualmente por mordedura de un animal rabioso; el período de incubación oscila entre 20 y 90 días en la mayoría de los casos, aunque los hay excesivamente cortos (9 días) y también largos (hasta 23 meses).

La patogenia de la enfermedad, después de una infección por mordedura, ha sido exhaustivamente estudiada. Se ha demostrado que el virus se aloja durante un período variable de tiempo en la zona de la inoculación. Esto se puso en evidencia cuando se observó que la enfermedad en ratones experimentalmente infectados podría prevenirse por amputación del miembro inoculado hasta 18 días de la infección <31>.

El curso de la enfermedad puede dividirse en cinco etapas; período de incubación, pródromo, fase neurológica aguda, coma y muerte.

Durante el período de incubación no se observan otros síntomas que no sean molestias locales propias de la herida, los primeros síntomas aparecen durante el pródromo y son inespecíficos; tales como malestar general, anorexia, dolor de cabeza y fiebre.

La fase neurológica aguda comienza habitualmente diez

días después de los primeros síntomas con claros signos de afección al sistema nervioso central el que se caracteriza ultraestructuralmente por el desarrollo de matrices intracitoplasmáticas graduales. Mixamoto y Matsumoto en 1965 <37>, demostraron en forma concluyente que la matriz viral corresponde a los corpúsculos de Negri que se observan al microscopio óptico.

Las matrices virales en neuronas infectadas con virus fijos son pequeños y no visibles con el microscopio óptico. La observación de que las neuronas de animales infectados con virus calle presentan corpúsculos de negri grandes y numerosos mientras que los producidos por virus son escasos y pequeños, podrían significar de acuerdo a la interpretación de Hummel y Koprowki <24> una expresión del grado de adaptación de una determinada cepa a un tipo celular dado.

Estudios de microscopía electrónica muestran que se infectan fundamentalmente las neuronas, aunque en casos de rabia humana también puede detectarse virus en astrocitos y en células de glia <38>.

La infección en el cerebro se produce inicialmente en el sistema límbico, lo que explica ciertos síntomas de la enfermedad tales como estado de alerta, pérdida de la timidez natural, conducta sexualmente aberrante y agresividad. Mas avanzada la infección todo el cerebro se ve afectado <23>. Aproximadamente el 50% de los casos manifiestan hidrofobia gradualmente, se manifiesta parálisis que es predominante. El paciente finalmente cae en estado de coma, el que puede

durar desde horas hasta meses. La muerte se produce habitualmente por paro respiratorio o bien por, complicaciones derivadas del coma <17,38>. Una vez producida la invasión del cerebro, el virus inicia su dispersión centrífuga. El tránsito viral centrífugo puede producirse por vía exoplásmica, por el espacio intersticial, o bien por infección de neuronas contiguas, después de brotar de la membrana plasmática ambas vías de infección le permiten elegir los mecanismos defensivos del huésped <39>.

En las glándulas salivales, la brotación del virus se produce de la membrana plasmática de las células de los acinos que enfrentan el espacio salivar. En cambio no brota hacia las áreas basales donde se concentran las defensas del huésped. Los acinos resultan pues un sitio de protección del virus <40,41>.

En periodos terminales de la infección también se puede observar infección masiva de las terminaciones olfatorias y de las papilas gustativas <23>.

Cuando la infección se produce por vía aerógena la patogenia de la enfermedad difiere de las antes descrita. A nivel de laboratorio se pudo observar que el primer sitio donde puede detectarse virus es la mucosa nasal, seis días post-infección en el cerebro, un día después en la médula <42,43>.

Estos hallazgos fueron confirmados mediante la infección experimental de ratones lactantes con virus fijo CVS por inhalación. Se observó replicación viral en la mucosa nasal,

que precede a la invasión del córtex olfatorio, en particular del bulbo olfatorio.

Una vez atacado el cerebro la infección progresa caudalmente por la médula espinal. La dispersión centrífuga comienza luego a través de los nervios espinales.

Se encontró una temprana distribución de antígeno viral en las terminaciones nerviosas de la piel de la cara, lo que evidencia que el nervio trigémino se ve tempranamente afectado <44>.

En otras experiencias realizadas en ratones inoculados por vía intranasal con virus calle, pudo detectarse virus rábico en el nervio trigémino entre seis y ocho días después de la infección <45>.

3.2.3 RESPUESTA INMUNE

La respuesta a la infección por virus rábico en el hombre es poco conocida; dado al curso tan lento de la enfermedad, se podría pensar en una respuesta inmune efectiva pero ésta no es eficaz; pues el desenlace de la enfermedad es casi siempre fatal <46>.

Se debe tener en cuenta la patogenia de la enfermedad; en la cual se produce un ocultamiento eficaz del virus respecto de los mecanismos defensivos del huésped dado que:

1. La brotación a nivel de membrana plasmática es muy escasa
2. El escaso virus liberado es rápidamente removido por la infección de células vecinas
3. El limitado número de partículas que pueda brotar de la mebrana plasmática del axón queda retenido en la vaina de mielina circundante;
4. No hay

citopatología evidente que pueda estimular reacción inflamatoria ni en el tejido nervioso ni en tejidos extraneurales, hasta muy avanzada la infección. En estados terminales de la enfermedad, la cantidad de partículas virales liberadas es masiva y esto coincide con la aparición de títulos de anticuerpos, (se ha observado experimentalmente títulos altos en casos de recuperación de la enfermedad) <43>.

3.2.4 TRATAMIENTO

A la fecha no existe tratamiento antirrábico; lo único que existe son tratamientos profilácticos, sin embargo, la decisión de iniciar un tratamiento antirrábico después de la exposición es uno de los problemas más difíciles con que ha de enfrentarse el médico. En tal desición habrán de tenerse en cuenta los siguientes factores:

- 3.2.4.1 Naturaleza de la exposición
- 3.2.4.2 Presencia de rabia en la zona donde procede el animal en cuestión.
- 3.2.4.3 Especie a que pertenece el animal.
- 3.2.4.4 Estado clínico del animal.
- 3.2.4.5 Si puede disponerse del animal para su observación o para ensayos de laboratorio.
- 3.2.4.6 En cualquier caso en general se procederá al tratamiento local en la herida y se iniciará la administración de suero y/o vacuna (Inmunoglobulina humana antirrábica y suero antirrábico) <12.32>.

3.2.5 PROFILAXIS

El comité CEPANZO (Centro Panamericano de Zoonosis) ha puesto de relieve lo más importante en el tratamiento ulterior a la exposición del virus de la rabia.

Entre los primeros auxilios figuran el lavado de la herida bajo el chorro de agua con jabón, un detergente o cualquier otra sustancia de efecto letal demostrado sobre el virus rábico. Siempre que sea posible se evitará la sutura de la herida. Se aplica después alcohol al 45-70%, tintura de yodo o soluciones de amonio cuaternario. Seguidamente se aplica suero antirrábico instilado dentro de la herida e infiltrándolo alrededor. Aplicación de medidas antitetánicas y de antibióticos o medicamentos contra infecciones distintas de la rabia <12>.

Se podrá interrumpir el tratamiento si el resultado del laboratorio es negativo. El comité de la OMS expresó su convicción de que la administración combinada de suero y vacuna antirrábica junto con el tratamiento local de la herida constituyen la mejor profilaxis antirrábica posible en una persona expuesta.

Se tomará en consideración si el animal es un perro o gato, se mantendrá en observación si es posible por un Veterinario (quien es la persona indicada ya que tiene conocimientos sobre la conducta de los animales y podrá detectar cualquier cambio en la misma) Durante diez días.

El tratamiento del paciente se interrumpirá al décimo día si hasta entonces el animal ha permanecido sano <12>.

Acción de las sustancias a ser utilizadas:

El alcohol isopropílico al 70%, la tintura de yodo, la merbromina al 2%, actúan por combinación con las proteínas de la capa proteínica del virus precipitándolas. El jabón de baño y el detergente amónico del tipo alquil-bencen-sulfonato actúan por disolución de la capa grasosa alterando la permeabilidad de dicha membrana, produciendo su desnaturalización <44>.

El virus rábico es estable a un pH entre 3 y 11, por lo cual se cree que el jugo de limón actúe por un cambio de pH <8>.

3.2.6 EPIDEMIOLOGIA

Una zona puede considerarse afectada de rabia si se ha confirmado la presencia de casos indígenas en el hombre o en algún animal en cualquier momento durante los 2 años prece - dentes. Inversamente puede definirse como zona exenta de rabia aquella en que no se haya registrado ningún caso indígena de la enfermedad en el hombre o en cualquier especie durante 2 años <12>.

La rábica en el hombre y los animales constituye un grave problema mundial. Se presenta en todos los continentes con excepción de Australia y la Antártida <22>, Japón, Gran Bretaña, Asia, los países Escandinavos, España y Portugal, en Europa. En nuestro continente no se notifican casos en una extensa área del Caribe, Jamaica y Uruguay.

Los casos de rabia registrados en América permiten dividirla en dos grandes áreas con características muy

diferentes; en la primera, que comprende el Canadá y Estados Unidos de América se ha eliminado la rábica en animales domésticos y, como consecuencia, la incidencia de la enfermedad en el hombre es mínima. Subsiste sin embargo, un problema de difícil solución como lo es la rabia en la fauna silvestre: zorrinos, zorros, murciélagos, mapaches, lobos, coyotes, gatos monteses. Estos animales además de constituir un reservorio de la enfermedad podrían transmitirla a las especies domésticas y éstas al hombre <12,34>.

En la segunda área formada por el resto de América se observa un elevado nivel de casos de rabia humana y canina y un menor registro de casos en la fauna silvestre.

Esta situación persiste en la actualidad y no se ha logrado modificar el impacto en la salud humana, sin embargo en los últimos años se ha logrado desarrollar vacunas de mejor calidad y producción así mismo métodos de diagnósticos mas confiables y prácticos.

Se han realizado campañas antirrábicas en países de la región y se ha logrado éxito; por lo que se menciona que no se registran casos de rabia en el hombre en regiones como Belice; Costa Rica, Canadá y Granada desde 1971, en Panamá desde 1973 y en Cuba desde 1976 <45>.

Datos obtenidos por los OMS en 1983 registraron en el mundo 1,135 casos de rabia en humanos, 91 en Africa, 213 en América, 831 en Asia y uno en Europa contraído en Sudán.

En 1985 los países de América notificaron a la OPS/OMS 241 muertes de seres humanos atribuidos a la rabia (ver anexo tabla No. 1).

En los años 1986 y 1988 se reportaron 205 y 198 casos de r bia respectivamente con una distribución que se puede observar en las tablas No. 2 y 3 de anexos.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA

4. JUSTIFICACIONES

La vacuna antirrábica no es administrada en todos los casos en los que las personas se ven afectadas por el contacto con el virus, por desconocimiento de la profilaxis; en el campo es donde las personas se ven más afectadas por el ataque de animales rabiosos; y carecen de medios para la administración de vacuna, es por ello que se ven en la necesidad de utilizar sustancias de uso común; y que están al alcance, para curarse de las heridas ocasionadas en caso de mordedura de un animal con rabia.

Debido a que la literatura no presenta referencias de estudios anteriores sobre el tema, se hace necesario la realización del presente estudio.

5. OBJETIVOS

- 5.1 Determinar la actividad viricida del alcohol al 70%; mercurio cromo al 2%; tintura de yodo; jabón detergente; jabón de baño; jugo de limón, que son sustancias utilizada comunmente en la desinfección de heridas causadas por mordeduras de animales rabiosos.

- 5.2 Comprobar *in vivo* los efectos que dichas sustancias tienen contra el virus rábico.

6. HIPOTESIS

Las sustancias de uso común jabón; detergente en polvo, alcohol al 70%, jugo de limón, merbromina al 2% (mercurio cromo), tintura de yodo, presentan actividad viricida sobre el virus rábico al ser aplicadas en una herida ocasionada después de la mordida de un animal con rabia.

7. MATERIAL Y METODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO

Cepas de virus fijos CVS 51-123 sustancias a ser utilizadas: alcohol al 70%, merbromina al 2% (mercurio cromo); jugo de limón, jabón detergente, jabón de baño, tintura de yodo, suero equino descomplementado.

Ratones blancos de capa CD albino suizo de 3 - 4 semanas de edad.

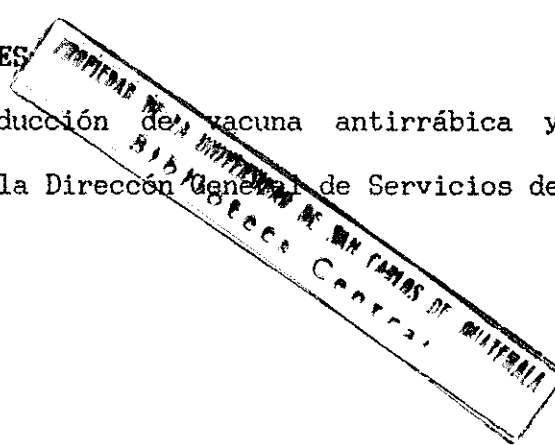
7.2 RECURSOS HUMANOS.

Br. Lourdes del Carmen Rendon	Tesista
Lic. Rina Paz de Rosal	Asesor
Br. Enrique Albizú	Co-asesor

Personal del Laboratorio de producción de vacuna antirrábica del la Dirección General de Servicios de Salud.

7.3 RECURSOS INSTITUCIONALES

Laboratorio de producción de vacuna antirrábica y diagnóstico de rabia de la Dirección General de Servicios de Salud.



7.4 RECURSOS MATERIALES

7.4.1 MATERIAL Y EQUIPO

- Tubos de ensayo
- Pipetas serológicas
- Agujas No. 27 1/2
- Jeringas graduadas de 1cc (de 0.01 cc)
- Concentrado para ratón
- Masking tape
- Tapones de hule
- Planillas de control
- Gradillas
- Jaulas de policarbonato con sus tapaderas
- Pinzas
- Aspirador automático
- Mamaderas con su dispensador
- 200 ratones de 3 a 4 semanas de edad

7.4.2 REACTIVOS

- Alcohol al 70%
- Merbromina al 2% (mercurio cromo)
- Jugo de limón
- Jabón detergente
- Jabón de baño
- Tintura de yodo
- Cepa de virus C. V. S.
- Suero equino descomplementado.

7.5 PROCEDIMIENTO

7.5.1 Selección de 72 ratones a ser usados tanto para la titulación, como para las pruebas experimentales. Ratón albino Suizo cepa CD, de 3 a 4 semanas de edad sin importar el sexo.

7.5.2 Preparación del virus rábico de trabajo:

7.5.2.1 Se tituló el virus rábico de la siguiente manera: se hicieron diluciones decimales del virus rábico (CVS; cepa de virus estandar) en suero equino inactivado (descomplementado) al 2% con agua estéril. los tubos de las diluciones se conservaron en hielo mientras se trabajó para mantener la viabilidad del virus las diluciones de inocularon intramuscularmente en dosis de 0.03 ml (dosis única para el ratón) <1> en la región plantar. Las diluciones que se usaron de 10 Exp (-2) a 10 Exp (-5) y se utilizaron 6 ratones para cada una de las diluciones.

7.5.2.2 Se observaron los ratones inoculados con virus rábico, durante 21 días; para poder establecer el título del virus (DL-100), la observación de baso en los cambios de conducta de los animales y fue realizada con ayuda del personal experimentados.

7.5.2.3 Después de establecer el título del virus 10-2 se determinó la dilución donde se encuentran las dosis letales 100 (20 dosis) (1 dosis letal 100 es la dilución donde muere el 100% de los ratones que se usarán en la inoculación.

7.5.2.4 Para la inoculación se provocó una herida (con un instrumento semejante a los dientes de un animal) en la región plantar de la pata trasera del ratón sobre la cual se expuso el virus y después de transcurridos 10 minutos se aplicaron las sustancias experimentales en su presentación de uso corriente.

7.5.2.5 Se observó el grupo de ratones inoculados con las sustancias más sus controles positivo y negativos durante 21 días. la observación se hizo con ayuda de personal con experiencia en la vigilancia de la conducta de los ratones.

En la titulación se usaron un total de 72 ratones.

7.5.3 GRUPOS EXPERIMENTALES

7.5.3.1 GRUPO 1 EXPERIMENTAL

Se procedió a realizar una herida con un instrumento que semejara los dientes de un animal, a todo lo largo de la región plantar de una de las patas traseras del ratón, (36 en total) luego se tomarán 0.03cc de la dilución

del virus donde están 20 DL 100 y se infectó el área, sobre la herida y se dejó expuesta al virus durante 2 minutos, luego se colocaron los ratones en su jaula; después de transcurridos 10 minutos se aplicaron las sustancias a ser enfrentadas: alcohol; Isopropilico al 70%; jabón de baño; detergente; amoniaco del tipo benzenalquilo sulfato; tintura de yodo; jugo de limón; merbromina al 2%; estas sustancias fueron aplicadas en la herida sumerjiendo la pata del animal en cada una de ellas, las cuales fueron colocadas en cajas de petrí; luego de exponerlos animales (6 para cada sustancia) durante 1 minuto fueron depositados nuevamente en sus jaulas y se procedió a la identificación de cada una de las mismas; y a la observación durante 21 dias de la conducta de los animales.

7.5.3.2 GRUPO 2 CONTROL NEGATIVO

Se tomaron las sustancias a ser enfrentadas y se procedió a su aplicación sobre la herida en la región plantar de cada uno de los 6 ratones y se observarán durante 21 dias.

7.5.3.3 GRUPO 3 CONTROL POSITIVO

Se aplicó en la región plantar después de realizada la herida 0.03 de dilución del virus donde están 20 DL 100 y se observaron los ratones inculados <6> durante 21 dias.

Los resultados obtenidos son solo de muerte, ya que ninguna de las 6 substancias trabajadas logró evitar que la enfermedad se desarrollara. Se habia propuesto en el protocolo usar la prueba de Fisher sin embargo no fué posible su aplicación, dados los resultados: por lo que solamente se concluyó en presentarlos de una forma descriptiva.

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron negativos, pues ninguna de las seis sustancias enfrentadas al virus logró controlar el desarrollo de la enfermedad rabica, lo que nos hace pensar que ninguna de las sustancias probadas es útil para efectuar desinfección de heridas ocasionadas por mordedura de animal rabioso, y en base a estos datos se puede ver que no es aplicable la prueba del diseño estadístico propuesta en el Protocolo, y como no se observa ninguna diferencia significativa entre las sustancias ensayadas pues los datos obtenidos son solo de muerte en cada uno de los casos, por lo que no amerita un análisis estadístico de este tipo y los datos se expresan de una manera descriptiva.

Sin embargo los resultados presentan diferencia en el tiempo de sobrevivencia de los animales que fueron inoculados con yodo y jugo de limón, ya que estos sobrevivieron más tiempo que los animales que fueron inoculados con las otras sustancias sin embargo esta diferencia no nos permite concluir que estas dos sustancias tengan efecto contra el virus rábico; pues al final los animales murieron de igual forma que con las otras sustancias que fueron utilizadas. Los controles que se llevaron a la par de las pruebas fueron sometidos a las mismas condiciones de alimentación y asiamiento durante el mismo periodo de tiempo.

El control positivo (de la sobrevivencia de los ratones) en el cual seis ratones inoculados con cada una de la seis sustancias resistieron a la prueba (100%). El control ne-

gativo para la dilución del virus mas substancia enfrentada reveló un 0% de sobrevivencia, pues los ratones murieron en el transcurso de período de observación (21 días); otras de las causas de muerte que se observó fue el canibalismo, pero esta causa no influyó significativamente en los resultados obtenidos.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

9. DISCUSION DE RESULTADOS

El análisis de los resultados fué hecho en base a la respuesta obtenida la cual fué sólo de muerte; pues ninguna de las sustancias enfrentadas al virus resultó efectiva contra el mismo, por lo que fué posible aplicar la prueba estadística de Fisher, propuesta en el protocolo, y solo se usó estadística descriptiva.

Así mismo se manifestó el canibalismo que es una etapa terminal de la enfermedad rábica y la cual contribuyó a la muerte de los ratones, sin embargo no influyó significativamente en los resultados.

Se concluye entonces que la vacunación es indispensable en el caso de que se presente ya sea riesgo de contraer rabia por mordedura de animal rabioso o por exposición de tipo laboral.

No se presentaron muertes debidas a procesos de la prueba en sí, tampoco muertes debido a traumatismos, el hecho de que todos los ratones del control negativo murieran implica que la dilución del virus utilizada fué capaz de producir enfermedad en los animales de experimentación.

Así mismo no hay que olvidar que los ratones de 3 a 4 semanas de vida se encuentran en una etapa crítica de su desarrollo por lo que factores como la mala nutrición o problemas de crecimiento e inmunológicos propios de cada individuo pueden hacerlos mas suceptibles a la infección rábica.

CUADRO DE RESULTADOS

	RANGO EN DIAS			SOBREVIVENCIA
	1 - 7	8 - 14	15 - 21	
1) ALCOHOL AL AL 70%.	4	2	-	0
2) JABON DE DE BAÑO.	3	2	1	0
3) DETERGENTE	2	2	2	0
4) YODO	3	1	2	0
5) MERBROMINA	1	3	2	0
6) JUGO DE LIMON.	1	4	1	0

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Ninguna de las sustancias ensayadas es efectiva para contrarrestar la enfermedad rábica.
- 10.2 La vacuna antirrábica es la única forma eficaz y segura de producir inmunidad contra la rabia.
- 10.3 La muerte de cualquier ratón durante el experimento, por traumatismo o canibalismo no afectaron los resultados de los análisis.
- 10.4 Toda persona que esté en contacto con el virus rábico está sujeta a contraer rabia, por lo que debe ser vacunada.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Se considera indispensable la vacunación como único medio para obtener inmunidad contra la enfermedad rábica.
- 11.2 Es necesario que se emprendan campañas de vacunación antirrábicas dirigida a los animales domésticos (perros y gatos), pues son la principal fuente de transmisión al hombre.
- 11.3 Se debe hacer énfasis en la importancia de los esquemas de vacunación y en el beneficio de concluir los mismos, para lograr una inmunización adecuada.

12. REFERENCIAS

- <1> Vigilancia Epidemiológica en las Américas Lyssavirus
Doc. Tec. No.13 1981. (p. 4-6).
- <2> Perdomo G, Becco O. Estabilidad de la Vacuna antirrábica
de cerebro ratón lactante almacenada a distintas
temperaturas. Doc. Tec. No. 3 1984 (p 104-261-270).
- <3> Acha PN. Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmissi-
bles comunes al hombre y a los animales domésticos.
2ed. Washinton: OPS/OMS. Doc. Tec. 503, 1986 XXIV + 989
(p 502-526)
- <4> Congreso Avícola del Itsmo Centroamericano evaluación
Serológica de Campo de dos tipos de vacunas emulsinadas
en aceite contra la enfermedad de Neweastle Managua Doc.
Tec. 5 p.
- <5> Acha PN. Epidemiología de la rabia bovina Paralítica
transmitida por Quirópteros. Bol Of. Sanit. Panam 1968:
Mayo: 411-424.
- <6> Hernández G, Iturbide R. Aislamiento de virus rábico a
partir de glándula mamaria de ovino infectado natural-
mente. México: Interamericana. 1984. 390p. (p. 183-187).
- <7> Figueroa M. Enfermedades infecciosas de los animales
domésticos en Centroamerica. Costa Rica: Universidad
Doc. Tec. No. 7. 1984. 500p. (p. 461-483)
- <8> Kaplan M. M. Koprowski H. La Rabia 3ed. Ginebra: OMS
Serie de monografías # 23. 1976. 389 p.

- <9> Merchant I, y Packer R. Microbiología y Virología veterinaria. 3ed. España. Sopena. 1975.700p.(p.599-605)
- <10> Montay S, y Dutla S. Virología veterinaria. Colchonero F. Trad. México: Limusa. 1985. 350p. (p.238-244)
- <11> Macfarlan R, et al. T cel responses to cleaved rabies virus glycoprotein and to synthetic peptide. J. inmunol. 1984; 20 (3): 2748-2752.
- <12> Comité de Expertos de la OMS sobre Rabia. Septimo reporte. Expertos Ginebra: OMS/OPS, Doc.tec. # 704, 1984. 30,39,87 p.
- <13> Murphy FA, Harrison AK. Electromicroscopy rhabdoviruses J. virol 1979: 71: 1689-1676.
- <14> Miyamoto K, Matsumoto S. The nature of the Negri Body. The J. Cells. Bid. 1965; (17): 27-677.
- <15> Zaides VM, et al. Reevaluation of the proteins in rabies virus particles J. virol 1979; (10): 29-1226.
- <16> Arita M, Atanasiu P. Estude Comprative du Poids Moleculares de plusiers souches de virus rabique par electrophorese su gel de polycrylamide. Ann. Virol (Inst. Pasteur) 1980; (6) 131-201.
- <17> Dellapiame NI. Estudio de las cepas de virus rábico utilizadas en la preparación de vacuna de cerebro de ratón lactante. Argentina: Universidad de Buenos Aires (Tesis de graduación para optar el título de Doctor en Ciencias Biológicas), 1984: (p.121).
- <18> Dietzschol B, et al. oligosccharides of the glycoprotein of rabies virus. J. Virol 1977; 23(8): 286-293.

- <19> Blough HA, *et al.* lipids or rabies virus and BHK-21 cell Membranes. *J. Virol.* 1977; 21:950-955.
- <20> Schesinger HR, *et al.* Comparizon of the lipids, of intracellular and extracellular rabies viruses. *J. Virol.* 1983; 12:1028-1030.
- <21> Baer GM, *et al.* A bat rabies isolate with an unusually short incubation period. *Exp. Mol. Pathol.* 1985; 33:211-291.
- <22> Sokol F, *et al.* Purificartion of rabies virus grows in tissue culture. *J. Virol* 1968; 2: 830-836.
- <23> Murphy FA. rabies pathogenesis. *Br. Rev. Vir.* 1977; 54: 200-279.
- <24> Sokol F. Chemical composition and structure of rabies virus. In: *The natural History of Rabies.* New York. Doc Tec. No. 87. 1975; 1-79.
- <25> Clark HF, *et al.* Detective interfering particles of fixed rabies viruses: lack on correlation with attenuation or autointerference in mice *J. Virol.* 1983; 52: 425.
- <26> Murphy FA, Harrison AK. electron Microscopy of the rhabdoviruses of animals. *J. Inf. Dis.* 1979; 1:65.
- <27> Wolloway BP, Obijeski JF. Rabies induced RNA Synthesis in BHK-cells. *J. Gen Virol,* 1988; 49: 181-195.
- <28> Arriola Ruiz TR. Rabia humana HGSJ de Dios Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Médicas). 1981. 52 p.

- <29> Diaz AM. Situación epidemiológica en las Américas. Vacunas e inmunidad. Rev. Arg. Microbiol 1987; 19: 125-138.
- <30> Constantine DG. Rabies transmission by nontype route. J. Gen. Virol 1989; 77: 285-287.
- <31> Baer GM. Development of a model in mice for the pathogenesis and treatments of rabies. J. Virology. 1972; 65:520-527 <32> Wunner WH, et al. Rabies subunit vaccines. J. Gen Virol 1983; 64: 1649-1656.
- <33> Dietzhold B. Oligosaccharides of the glycoprotein of rabies virus. J. Virol. 1977; 23: 286-293.
- <34> Cox JH, et al. Rabies virus glycoprotein. J. Immunol 1977; 16: 754-759.
- <35> Wiktor TJ, et al. Antigenic properties of rabies virus components. J. Immunol. 1973; 11: 269-276.
- <36> Cox JH, et al. Preparation and characterization of rabies virus hemagglutinin. J. Inf Immunol. 1980; 30:572-577.
- <37> Wiktor TJ, et al. Antigenic properties of rabies virus components. J. Immunol. 1987; 10: 269-276.
- <38> Matsumoto S. The natural history of rabies electron microscopy of the central nervous system infection. J. Virol. 1988; 61(10): 3314-3318.
- <39> Sung JM, et al. Case of human rabies and ultrastructure of the Negri bodies. J. Neuropathol 1976; 33(9): 533-541.

- <40> Dierks RE, et al. extraneural rabies infection virus development in for salivary gland. J. Pathology 1969; 54 (7): 251-254.
- <41> Dierk RE. The natural history of rabies electron microscopy of extraneural rabies infection. J. Pathology 1975; 316 (7): 364-372.
- <42> Hronousku V, Benda R. Experimental of inhalation rabies infection in suckling Guinea. J. Virol. 1976;13:183-193
- <43> Hronousku V, Benda R. Development of inhalation rabies. J. Virol. 1987; 25(8): 193-198.
- <44> Litter M. Farmacología 8a. ed. Buenos Aires: El Ateneo 1983. 1500p. (p.1388: 1389-93; 1408-1410).
- <45> Pedro N, Boris Sxyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales 2ed Ginebra: OPS/OMS, Doc. tec. 509, 1988. 510-529 p.
- <46> Portillo JCR. Determinación de la Actividad Virídica de algunas sustancias de uso común sobre el virus rábico. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1988 55 p.

ANEXOS

TABLA No. 1

MORTALIDAD HUMANA POR RABIA
 SEGUN REGION Y PAIS DE LAS AMERICAS
 AÑO 1985

PAIS POR REGION	CASOS	SUB-TOTAL
América Del Norte		
Canadá	1	
E.U.A.	0	1
América Central		
México, Panamá	0	
Belice	0	
Costa Rica	24	
El Salvador	24	
Guatemala	7	
Honduras	5	
México	84	
Nicaragua	0	
Panamá	0	120
Caribe		
Haití	2	
República Dominicana	4	6
América del Sur		
Bolivia	7	
Brasil	52	
Colombia	13	
Ecuador	16	
Paraguay	3	
Perú	22	
Venezuela	4	117
T O T A L .		244

Ref <3>

TABLA No. 2

EN 1.986 SE NOTIFICARON DE LA (OMS/OPS) 205 CASOS

DE RABIA EN EL HOMBRE

PAIS POR REGION	CASOS	SUB-TOTAL
AMERICA CENTRAL		
MEXICO, PANAMA		
EL SALVADOR	11	
GUATEMALA	10	
HONDURAS	5	
MEXICO	85	
NICARAGUA	2	
		113
CARIBE		
HAITI	4	
REPUBLICA DOMINICANA	8	
		12
AMERICA DEL SUR		
BOLIVIA	8	
BRASIL	33	
COLOMBIA	10	
ECUADOR	10	
PARAGUAY	9	
PERU	7	
VENEZUELA	3	
		80
TOTAL		205

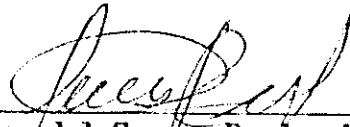
TABLA No. 3

EN 1.986 SE DENUNCIARON 198 CASOS

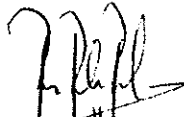
DE RABIA EN HUMANOS

PAIS POR REGION	CASOS	SUB-TOTAL
AMERICA CENTRAL		
MEXICO, PANAMA		
BELICE	2	
EL SALVADOR	26	
GUATEMALA	11	
HONDURAS	1	
MEXICO	72	
NICARAGUA	1	
		113
CARIBE		
HAITI	2	
REPUBLICA DOMINICANA	3	
		5
AMERICA DEL SUR		
BOLIVIA	17	
BRASIL	37	
COLOMBIA	11	
ECUADOR	2	
PERU	12	
VENEZUELA	1	
		97
TOTAL		198

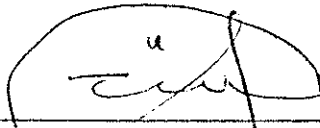
NOTA: LOS DATOS DE ESTAS TABLAS SE BASAN EN LAS NOTIFICACIONES QUE LOS PAISES DE AMERICA ENVIAN REGULARMENTE AL CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS Y EN OTRAS INFORMACIONES PROCEDENTES DE FUENTES AUTORIZADAS.



Lourdes del Carmen Rendon Araua
Autora



Licda. Rina Paz de Rosal
Asesora



Lic. Gerardo Arroyo
Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano