

# Eficacia de las vacunas contra la rabia contra el virus Duvenhage aislado de murciélagos domésticos europeos (*Eptesicus serotinus*), la rabia clásica y los virus relacionados con la rabia

**M. Fekadu, J.H. Shaddock, D.W. Sanderlin and J.S. Smith**

*Los aislados de rabia de enzoóticos separados se pueden distinguir por sus reacciones con paneles de anticuerpos monoclonales (mAb) dirigidos a diferentes sitios en la nucleocápside y las glucoproteínas del virus. Se pueden hacer estimaciones de la relación antigenica comparando similitudes entre los grupos. De esta manera, se puede demostrar que, si bien las cepas clásicas de la rabia reaccionan con la mayoría de los mAb, los *Lyssavirus* relacionados con la rabia (Mokola, Lagos y Duvenhage) reaccionan con solo unos pocos mAb y aislados de la rabia de los murciélagos *Eptesicus serotinus* en Europa son intermedios entre los dos grupos. Los ratones inmunizados por vía intraperitoneal con vacuna diploide humana (HDCV) o vacunas animales (Rabisin y Rabiffa) se protegieron contra un desafío con DBV, DUV-1 y la mayoría de las cepas de rabia clásicas. La HDCV solo proporcionó protección parcial contra aislados de virus humanos de Finlandia y Arabia Saudita. La HDCV no protegió a los ratones contra los desafíos con el murciélagos de Lagos o el virus Mokola (virus similares a la rabia). Las vacunas animales, sin embargo, protegieron a los ratones contra el virus del murciélagos de Lagos, pero no contra Mokola. Los perros inmunizados con Rabisin fueron protegidos contra un desafío intracerebral con DBV. Los perros desarrollaron títulos de anticuerpos neutralizantes de la rabia después de la inoculación intramuscular o intravenosa con virus vivos DBV o DUV-1; estos perros fueron protegidos contra un desafío intramuscular del virus de la rabia callejera canina. Llegamos a la conclusión de que las vacunas contra la rabia probadas protegen contra DBV/ DUV-1 y las cepas clásicas de la rabia callejera, pero no contra Mokola.*

**Palabras clave:** Virus Duvenhage; rabia; murciélagos

## Introducción

Dinamarca había estado libre de rabia terrestre durante más de tres años<sup>1</sup> (aunque no había información disponible sobre la rabia de los murciélagos) cuando, en septiembre de 1985, un murciélagos doméstico insectívoro rabioso (*Eptesicus serotinus*) mordió a una mujer en el dedo.<sup>2</sup> Este primer caso fue seguido por 105 más en 1986.<sup>3</sup> A fines del año 1987 se habían hecho más de 270 aislamientos de murciélagos de siete países diferentes y el virus ahora parece ser enzoótico entre los murciélagos del norte y oeste de Europa.<sup>3-7</sup> El tipo de estos aislamientos con un panel de anticuerpos monoclonales (mAb) habían demostrado que estaban relacionados antigenicamente con los aislados del virus Duvenhage DUV encontrados en África<sup>8</sup> y las cepas de virus aisladas de tres murciélagos no identificados en el FRG.<sup>7,9</sup>

Los miembros del género *Lyssavirus* están relacionados antigenicamente, independientemente de la especie de origen animal o geográfico.<sup>10,11</sup> Las similitudes entre la glucoproteína de varias cepas del virus de la rabia se correlacionan con el nivel de protección en ratones.<sup>12</sup>

Laboratorio de Rabia, Rama de Zoonosis Virales y Rickettsiales, División de Enfermedades Virales, Centro de Enfermedades Infecciosas, Centros para el Control de Enfermedades, Servicio de Salud Pública, EE. UU. Departamento de Salud y Servicios Humanos, PO Box 363, Lawrenceville, GA 30246, EE. UU.

(Recibido el 15 de enero de 1988; revisado el 3 de mayo de 1988)

Por ejemplo, los ratones inmunizados con una cepa de la vacuna Pasteur están protegidos contra el desafío con cepas de virus de la rabia callejera que tienen determinantes antigenicos comunes, pero la protección es mínima o parcial después de los desafíos con virus antigenicamente diferentes.<sup>13,14</sup> Debido a que la inmunidad contra la rabia no era completamente protectora contra las cepas de virus aislado de los murciélagos no identificados en el FRG<sup>7</sup>, provocó la preocupación de que la inmunidad contra la rabia no protegería completamente contra el desafío con el virus del murciélagos danés (DBV).

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto protector de las vacunas contra la rabia en humanos y animales contra el desafío con el DBV.

## Materiales y métodos

### Virus

En este estudio se emplearon cepas representativas de rabia y virus similares a la rabia que se aislaron de humanos,<sup>15,16</sup> especies diferentes de murciélagos, mamíferos terrestres y diferentes regiones geográficas con fines comparativos. Se utilizaron aislados de rabia canina, ya que el perro es el animal más frecuentemente responsable de la exposición humana. Se eligió una variedad de aislados de murciélagos de los EE. UU., ya que las diferencias de la proteína nucleocápsida (NC) sugieren que se producen varios enzoóticos independientes en las especies de murciélagos estadounidenses.<sup>17</sup>

**Tabla 1** Portador original y fuente geográfica de cepas de virus utilizadas en las pruebas de protección de vacunas

Identificador de virus	Portador original	Fuente geográfica
CVS-35	Virus estándar de desafío de laboratorio (bovino)	Francia
TD 2596	Perro	Texas (EE. UU.)
MD 5951	Perro	México
DHK	Humano <sup>a</sup>	Kenia
F3112	Humano <sup>b</sup>	Arabia Saudita
Ny-Bat 17-82	Murciélagos marrón grande ( <i>Eptesicus fuscus fuscus</i> )	Nueva York (EE. UU.)
Col-10092	Murciélagos canoso ( <i>Lasius cinereus</i> )	Colorado (EE. UU.)
Col-5005	Murciélagos marrón grande ( <i>Eptesicus fuscus pallidus</i> )	Colorado (EE. UU.)
GA-596	Gato	Georgia (EE. UU.)
Tbm	Murciélagos mexicanos de cola libre ( <i>Tadarida brasiliensis mexicana</i> )	Texas (EE. UU.)
DBV (Den-12185)	Murciélagos domésticos europeos ( <i>Eptesicus serotinus</i> )	Dinamarca
Duvenhage-1	Humano <sup>c</sup>	Sudáfrica
Duvenhage-2	Gato	Sudáfrica
Lagos-1	Murciélagos	Nigeria
Lagos-2	Gato	Zimbabwe
Mokola	Musaraña	Nigeria
FN	Humano <sup>d</sup>	Finlandia

<sup>a</sup> De un humano mordido por un perro rabioso. <sup>b</sup> De un humano mordido por un zorro rabioso del desierto. <sup>c</sup> De un humano mordido por un murciélagos rabioso. <sup>d</sup> De un humano posiblemente mordido por un murciélagos rabioso

La fuente de cada aislado de virus se resume en la *Tabla 1*: TD 2596, Ny-Bat 17-82, Col-10092 y Col-5005, Tbm y GA-596 fueron recibidas del departamento de salud estatal correspondiente donde habían sido enviadas para el diagnóstico de rabia. El MD 5951 fue recibido del Dr. M. Martell, México; DHK, FN y F3112 fueron de casos de rabia humana sometidos a los Centros para el Control de Enfermedades (CDC) para diagnóstico de Kenia, Finlandia y Arabia Saudita, respectivamente; DUV-1, DUV-2, Lagos-1 y Mokola fueron recibidos del Dr. R.E. Shope, Universidad de Yale; Lagos-2, un aislado de gato, fue recibido del Dr. Chris Foggin, Zimbabwe. Todas las cepas se pasaron por inoculación intracerebral de ratones lactantes y luego se usaron suspensiones al 20 % del cerebro infectado de ratones lactantes para el desafío.

#### Agrupación de cepas de virus en función de la reactividad con anticuerpos monoclonales.

Se seleccionaron veintiún anticuerpos monoclonales, reactivos con las proteínas nucleocápsides del virus de la rabia (mAb-NC) como se demostró por inmunofluorescencia de la impresión cerebral infectada fijada con acetona o portaobjetos de cultivo celular, para un panel de tipificación. De los 21 mAb-NC, 20 se prepararon en los CDC de ratones inmunizados con la cepa ERA del virus de la rabia,<sup>18,19</sup> y uno (mAb-W237-3) se fabricó en el Instituto Wistar en Filadelfia, Pensilvania, a partir de ratones inmunizados con la cepa de rabia estándar del virus de desafío (CVS).<sup>20</sup> Se produjeron treinta anticuerpos monoclonales diferentes contra la glucoproteína del virus de la rabia (mAb-GP) a partir de ratones inmunizados con la cepa de rabia CVS en el Instituto Wistar y fueron proporcionados por el Dr. Tadeusz J. Wiktor estos formaron el resto del panel de tipografía.

Estos anticuerpos monoclonales se utilizaron para agrupar los virus incluidos en el estudio. Todas las cepas se caracterizaron por su reactividad con mAb-NC por la técnica indirecta de anticuerpos fluorescentes<sup>17,18</sup> (*Figura*

1) y por neutralización con mAb-GP, utilizando la prueba rápida de inhibición de foco fluorescente<sup>21</sup> (*Figura 2*).

#### Vacunas

Las vacunas utilizadas fueron la vacuna de células diploides humanas (HDCV) (Imovax \* lote no. Z-1355), dos vacunas animales, una con adyuvante (Rabisin lote no. 544403) y una sin adyuvante (Rabiffa lote no. 6GS-0604), una vacuna de referencia estándar (lote 81-3-2) y una vacuna experimental producida a partir del virus del murciélagos danés (DBV).

Rabiffa e Imovax fueron adquiridas por cortesía del Laboratorio Mérieux (Atenas, Georgia), y Rabisin fue amablemente suministrado por los Servicios Veterinarios Daneses (Copenhague, Dinamarca). Las tres vacunas se prepararon a partir de la cepa de vacuna contra la rabia del virus de producción Pitman Moore (PM).

La vacuna de referencia se preparó a partir de CVS-11 y se recibió de los Laboratorios Nacionales de Servicios Veterinarios (Ames, Iowa). La vacuna experimental de DBV se preparó en nuestro laboratorio homogeneizando el lactante infectado para usar el cerebro en solución salina tamponada con fosfato para formar una suspensión al 10 % e inactivar el virus con β-propiolactona.<sup>22</sup>

#### Animales

Todos los animales utilizados en este experimento fueron criados en colonias cerradas en la instalación de cría de animales de los CDC. Se realizaron pruebas de neutralización en muestras de suero de perros antes de que se incluyeran en los estudios. Ninguno de los perros tenía anticuerpos neutralizantes de la rabia.

#### Determinación de los valores antigenicos de las vacunas.

La prueba de potencia del Instituto Nacional de Salud (NIH) se utilizó para determinar y estandarizar el valor antigenico de cada vacuna.<sup>23</sup>

\* Los nombres comerciales se proporcionan solo para identificación y su inclusión no implica aprobación por parte del Servicio de Salud Pública o el Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU.

**Tabla 2** Títulos de anticuerpos de protección cruzada y de neutralización de la rabia de perros inmunizados con vacunas contra la rabia o infectados con DBV o DUV-1 vivos, después de la exposición al virus heterólogos

Agente inmunizante	Vía	Desafío		Mortalidad	Título de anticuerpos neutralizantes de la rabia	
		Virus	Vía		Pre-desafío	Post-desafío
Rabisin	i.m.	DBV	i.c.	0/5	3.0	18.7
Control			i.c.	3/3	0.0	0.0
Virus vivo DBV	i.m.	TD (2596)	i.m.	0/5	0.7	14.5
Virus vivo DBV	i.v.	TD (2596)	i.m.	0/3	0.9	8.7
Virus vivo DUV-1	i.m.	TD (2596)	i.m.	0/5	1.7	8.5
Virus vivo DUV-1	i.v.	TD (2596)	i.m.	0/4	1.3	19.3
Control		TD (2596)	i.m.	4/4	0.0	0.0

El título se expresa como el título medio geométrico ( $UI \text{ ml}^{-1}$ ). DBV, virus del murciélagos danés; TD, cepa canina de Texas; i.c., intracraeal; i.m., intramuscular; i.v., intravenosa

**Tabla 3** Índices de protección de vacunas contra la rabia en humanos y animales contra desafío i.c. de la rabia y cepas de virus similares a la rabia en ratones

Virus de desafío	Vacuna		
	HDCV humana	Animal, con adyuvante <sup>a</sup>	Animal, sin adyuvante <sup>b</sup>
DBV	3.9	5.3	5.2
DUV-1	3.5	4.8	4.8
DUV-2	3.5	5.3	5.4
Murciélagos de Lagos 1 (murciélagos)	0.0	4.3	6.0
Murciélagos de Lagos 2 (murciélagos)	0.0	5.9	6.0
Mokola	0.0	0.0	0.0
FN (humano)	2.7	2.7	2.7
CVS	3.4	5.5	6.5
Perro de Texas (2596)	3.1	3.6	4.4
Perro mexicano (5951)	3.1	4.2	4.9
Kenia (DHK)	3.0	3.8	4.4
Arabia Saudita (F3112)	2.3	4.3	4.0
Murciélagos de Nueva York (17-82)	4.2	4.4	4.9
Murciélagos de Colorado (10092)	3.3	3.3	3.3
Murciélagos de Colorado (5005)	4.0	4.1	4.1
Murciélagos de Georgia (596)	4.1	4.2	4.2
Murciélagos de cola libre (Tbm)	4.2	5.0	5.0

<sup>a</sup> Rabisin. <sup>b</sup> Rabiffa

Los ratones fueron vacunados intraperitonealmente con diluciones de cinco veces de cada vacuna de prueba y desafiados con el virus de desafío estándar (CVS) después de la última vacunación. Grupos de ratones de control también fueron inoculados con un CVS. Las vacunas de prueba se diluyeron para obtener valores antigenicos similares para su uso en los experimentos de protección.

### Estudios de protección de ratones

Los experimentos de protección se realizaron utilizando el método NIH modificado.<sup>13</sup> Grupos de diez ratones hembra CDS-ICR de 6 semanas de edad se vacunaron semanalmente con las vacunas respectivas y se expusieron 7 días después de la segunda vacunación, junto con un número igual de ratones de control no vacunados, con diluciones de diez veces de cepas de virus de prueba.

Los criterios de valoración de dosis letal ( $LD_{50}$ ) en ratones de control vacunados y no vacunados se determinaron mediante la técnica modificada de Habel<sup>24</sup> y se calcularon mediante el método de Spearman-Karber.<sup>25</sup> El grado de protección (índice de protección) se determinó restando el logaritmo del criterio de valoración  $LD_{50}$  en ratones vacunados del de los ratones control. Para cumplir con el valor de protección estándar mínimo, el índice de protección de una vacuna debe ser de 3 logaritmos, lo que indica que la vacuna brinda protección contra la exposición con 1000  $LD_{50}$  intracerebrales de ratón (Ref. 24).

### Estudios de infecciosidad y protección en perros

Veintinueve beagles criados en laboratorio, de uno a tres años de edad, y de ambos sexos, se dividieron en grupos (*Tabla 2*) y se inocularon por vía intramuscular (i.m.), intravenosa (i.v.) o intracraeal (i.c.) con  $10^{4.8} \text{ LD}_{50}$  intracerebral de ratón de cepas DBV o DUV-1 (para determinar qué ruta de inoculación causaría enfermedad), y se observó durante al menos 60 días. Se recolectó sangre semanalmente para la determinación del título de anticuerpos neutralizantes contra cepas de virus homólogos (DBV o DUV-1) o heterólogos (CVS).<sup>22</sup> Al final del período de observación, todos los perros sobrevivientes fueron desafiados i.m. en el músculo masetero con  $10^{6.3} \text{ LD}_{50}$  intracerebral de ratón de un aislado de virus de la rabia callejera canina de la frontera Texas-Méjico (TD 2596).

Un grupo de cinco beagles fue vacunado i.m. con la dosis recomendada de una vacuna veterinaria contra la rabia (Rabisin) y desafiada i.c. 60 días después (la única ruta letal para los perros con la cepa DBV) con el virus DBV (*Tabla 2*). Un grupo de tres beagles no vacunados fue desafiado de manera similar. Como el propósito de este experimento era determinar si la vacuna comercial contra la rabia protegería a los animales domésticos contra una exposición al DBV, solo se usó el DBV para desafiar a los perros vacunados con Rabisin.

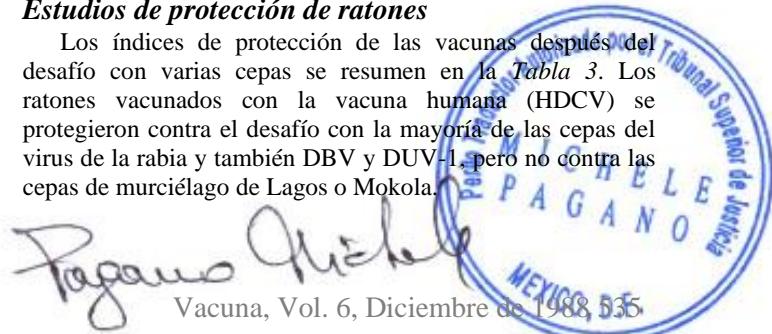
### Resultados

#### Estudios de anticuerpos monoclonales

Doce aislamientos de murciélagos de *E. serotinus* de Dinamarca reaccionaron de manera idéntica con los mAb dirigidos por NC, y el patrón de reacción observado distinguió estos aislamientos de los otros virus en la *Tabla 2*. La similitud entre este patrón de reacción y el de los virus relacionados con la rabia sugirió que, como los aislamientos de Duvenhage, Mokola y Lagos, el DBV está antigenicamente distante de los virus clásicos de la rabia callejera y de laboratorio. Las reacciones de neutralización con los mAb dirigidos por GP también mostraron esta relación. La reacción de los aislados de murciélagos europeos (incluida la del caso humano en Finlandia) fue muy similar a la de los aislados de Duvenhage africanos (*Tabla 3*).

#### Estudios de protección de ratones

Los índices de protección de las vacunas después del desafío con varias cepas se resumen en la *Tabla 3*. Los ratones vacunados con la vacuna humana (HDCV) se protegieron contra el desafío con la mayoría de las cepas del virus de la rabia y también DBV y DUV-1, pero no contra las cepas de murciélagos de Lagos o Mokola.



**Eficacia de la vacuna contra la rabia contra diferentes aislados: M. Fekadu et al.**

Mab-NC	CEPAS DE VIRUS ANALIZADAS															
	HUMAN			Zorros europeos*	Perros del todo el mundo+	MURCIÉLAGOS DE EE. UU.			MURCIÉLAGOS - EUROPEOS‡		LAB		RABIA RELACIONADA			
	FN	DHK	F-3112			EFF-1	EFF-2	TBM	ES	PM	CVS	DUV	LB-1	LB-2	Mok	
3-1																
8-2																
11-1																
15-3																
22-3																
23-4																
24-1																
24-10																
52-1																
52-2																
61-1																
62-4																
71-2																
97-3																
97-11																
141-1																
143-1																
146-3																
164-2																
W-237-3		ND	ND		ND	ND	ND	ND								
No. de aislados analizados	1	1	1	17	30	27	8	20	12	1	5	2	1	1	7	

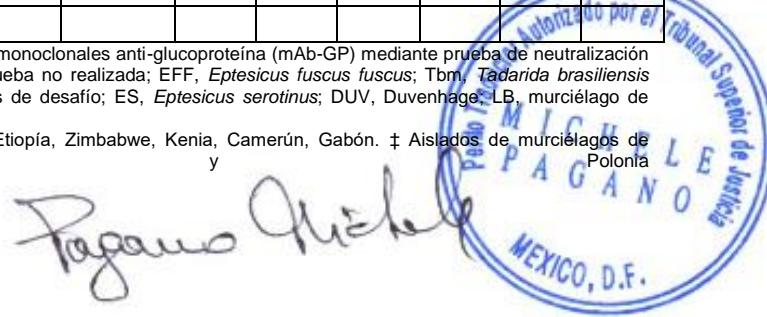
**Figura 1** Patrones de reactividad de cepas de virus seleccionadas con anticuerpos monoclonales de proteína antinucleocápside (mAb-NC) mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta. ■ El anticuerpo monoclonal no reacciona con la cepa del virus. ND, prueba no realizada; EFF, *Eptesicus fuscus fuscus*; Tbm, *Tadarida brasiliensis mexicana*; PM, virus de producción (cepa Pitman-Moore); CVS, estándar de virus de desafío; ES, *Eptesicus serotinus*; DUV, Duvenhage; LB, murciélagos de Lagos; Mok, Mokola; FN, DHK, F-3112 se enumeran en la Tabla 1.

\* Suiza, Francia. † México, Argentina, Guatemala, Filipinas, Tailandia, Nigeria, Etiopía, Zimbabwe, Kenia, Camerún, Gabón. ‡ Aislados de murciélagos de Dinamarca, Alemania y Polonia

Mab-NC	CEPAS DE VIRUS ANALIZADAS															
	HUMAN			Zorros europeos*	Perros de todo el mundo+	MURCIÉLAGOS DE EE. UU.			MURCIÉLA GOS - EUROPEOS‡		LAB		RABIA RELACIONADA			
	FN	DHK	F-3112			EFF-1	EFF-2	TBM	ES	PM	CVS	DUV	LB-1	LB-2	Mok	
509-6																
231-22																
220-8																
162-3																
1116-1																
1119-14																
1121-2																
101-1																
1111-1																
1112-1																
1105-3																
1107-1																
240-3																
613-14																
719-3																
11117-8																
226-11																
194-2																
248-8																
11113-1																
507-1																
718-4																
120-6																
1103-4																
1122-3																
127-5																
110-3																
1118-6																
1120-10																
No. de aislados analizados	1	1	1	1	3	1	1	1	10	1	1	1	1	1	1	

**Figura 2** Patrones de reactividad de cepas de virus seleccionadas con anticuerpos monoclonales anti-glucoproteína (mAb-GP) mediante prueba de neutralización de virus. ■ El anticuerpo monoclonal no reacciona con la cepa del virus. ND, prueba no realizada; EFF, *Eptesicus fuscus fuscus*; Tbm, *Tadarida brasiliensis mexicana*; PM, virus de producción (cepa Pitman-Moore); CVS, estándar de virus de desafío; ES, *Eptesicus serotinus*; DUV, Duvenhage; LB, murciélagos de Lagos; Mok, Mokola; FN, DHK, F-3112 se enumeran en la Tabla 1.

\* Suiza, Francia. † México, Argentina, Guatemala, Filipinas, Tailandia, Nigeria, Etiopía, Zimbabwe, Kenia, Camerún, Gabón. ‡ Aislados de murciélagos de Dinamarca, Alemania y Polonia



Los índices de protección contra los aislados humanos de Arabia Saudita y Finlandia indicaron que las vacunas solo ofrecían protección parcial (*Tabla 3*). Los ratones vacunados con Rabisin y Rabiffa fueron vacunados para protegerlos prácticamente de todas las cepas de rabia en la prueba, incluidos los aislados de murciélagos de Arabia Saudita y Lagos, pero no contra el virus Mokola. Las vacunas animales proporcionaron protección parcial contra el aislado humano finlandés (*Tabla 3*). Ambas vacunas animales mostraron índices protectores más altos que la vacuna humana. La vacuna experimental de DBV no pasó la prueba NIH y los ratones vacunados con el inmunógeno de DBV inactivado no estaban protegidos contra virus homólogos o heterólogos (datos no mostrados).

#### Estudios de protección del perro

Perros infectados i.v. o i.m. con las cepas DBV o DUV-1 no desarrollaron signos de enfermedad (*Tabla 2*). Las muestras de suero recolectadas semanalmente tenían títulos de anticuerpos neutralizantes contra virus homólogos (DBV) y heterólogos (CVS) (*Figura 3*). Estos perros estaban protegidos contra desafío i.m. con un virus de la rabia callejera canina, mientras que los perros previamente no infectados murieron (*Tabla 4*).

Perros de control inyectados i.c. con DBV murieron mientras que una sola dosis i.m. de perros protegidos con la vacuna Rabisin contra un desafío i.c. con DBV (*Tabla 2*).

Se observó un efecto de refuerzo en todos los animales después de la exposición al virus heterólogo (*Tabla 2*). La respuesta de anticuerpos a desafío i.c. con DBV de perros vacunados con Rabisin (*Tabla 2*) o inoculados con una dosis no letal de DBV vivo o DUV-1 y desafío i.m. con el virus de la rabia callejera (*Figura 4*) fue mayor contra DBV que CVS.

El título medio geométrico de los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la cepa DBV en perros vacunados con Rabisin y vacunados con DBV/ DUV-1 fueron 37 UI y 22.5 UI, respectivamente. Los títulos de anticuerpos neutralizantes en suero contra CVS de perros inoculados con DBV o DUV-1 fueron similares (18 y 17.5, respectivamente).

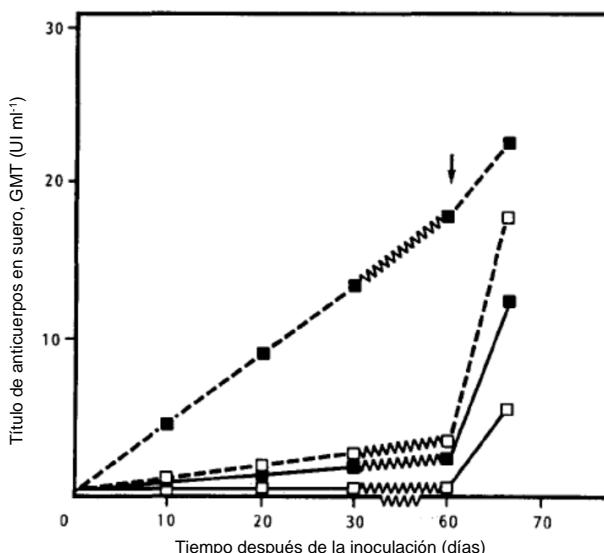


Figura 3 Títulos de anticuerpos neutralizantes de virus de perros inoculados con virus de murciélagos danés, DBV (—) o virus de la rabia callejera de perros. □, Título contra CVS; ■, título contra DBV

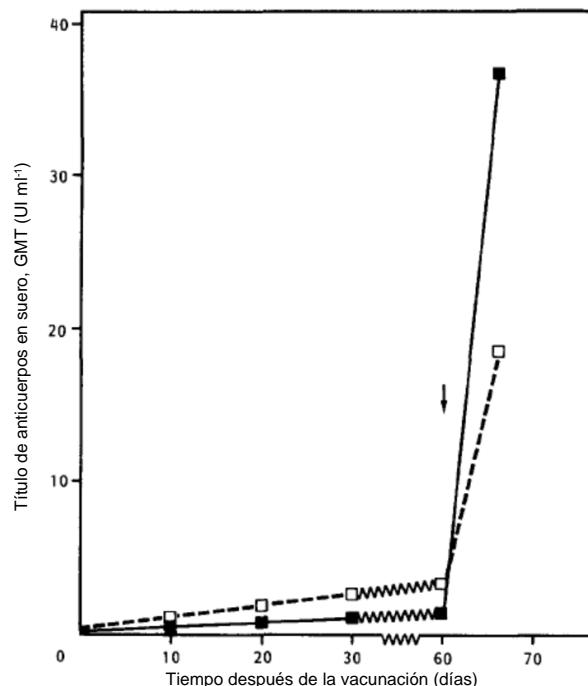


Figura 4 Títulos de anticuerpos neutralizantes de virus de perros inmunizados con la vacuna contra la rabia y desafiados i.c. con DBV. La flecha indica el momento del desafío. □—□ Título contra el estándar de virus de desafío (CVS); ■—■, título contra el virus del murciélagos danés (DBV)

Esto muestra que los grupos de virus Duvenhage (DBV/ DUV-1) y la cepa clásica del virus de la rabia callejera inducen una respuesta de refuerzo cuando los perros expuestos a la cepa del virus de la rabia o Duvenhage son desafiados con cepa heteróloga, lo que indica protección cruzada.

#### Discusión

Dado que la protección contra la enfermedad depende en gran medida de una respuesta inmune a la glucoproteína,<sup>26-29</sup> algunos investigadores han sugerido que la variación antigenica entre la glucoproteína de varios *Lissavirus* podría explicar fallas ocasionales en la profilaxis antirrábica. Las diferencias antigenicas en la glucoproteína de los virus de diferentes áreas enzooticas se pueden detectar con un panel de mAb-GP y estas diferencias se correlacionan con el grado de protección cruzada que proporcionan las vacunas contra la infección con cepas de virus de laboratorio o de calle. El análisis de mAb-NC de las proteínas de la nucleocápside de los aislados de *Lyssavirus* permite la formación de grupos antigenicamente distintos por especies o áreas geográficas.<sup>11-13, 17-19, 30,31</sup> Las cepas de virus de laboratorio también se pueden diferenciar de las cepas callejeras con base en las diferencias antigenicas en su proteína N.<sup>18-20, 30-32</sup>

Nuestros resultados indican que las vacunas comerciales humanas y animales preparadas con la cepa PM protegen a los ratones contra el desafío con DBV (o DUV-1).<sup>3,4</sup> El índice de protección de la HDCV contra la mayoría de las cepas de virus de la rabia analizadas fue similar (*Tabla 3*), aunque su índice de protección contra los aislados humanos de Arabia Saudita y Finlandia fue parcial. La HDCV no protegió a los ratones contra las cepas del virus de murciélagos Lagos o Mokola,<sup>9,33-35</sup> mientras que las vacunas animales proporcionaron protección completa contra el virus del murciélagos Lagos.

Los índices de protección de las vacunas animales para ratones fueron notablemente más altos que los de HDCV.

Los perros inmunizados con Rabisin y aquellos que sobrevivieron a la infección con DBV o DUV-1 fueron protegidos contra los desafíos de virus homólogos o heterólogos (Tabla 2). Nuestros resultados también revelan una estrecha correlación entre la protección en ratones y perros. Los ratones y perros inmunizados con vacunas de DBV inactivadas no desarrollaron anticuerpos neutralizantes y no estaban protegidos contra la exposición al virus de la rabia callejera.

Estudios realizados por otros<sup>13,36</sup> mostraron que el anticuerpo neutralizante inducido por la glucoproteína de la rabia era insuficiente para proteger a los animales de la infección de la rabia, lo que indica que otras proteínas virales estructurales pueden desempeñar un papel importante en la protección.<sup>37</sup> El grado o la extensión de relación antigenica (glucoproteína) entre el virus de la vacuna y las cepas de virus de desafío, sin embargo, se correlaciona bien con el valor protector de la vacuna.<sup>27-29, 38, 39</sup> En nuestros experimentos, por ejemplo, los ratones inmunizados con las vacunas PM estaban protegidos contra los desafíos con cepas clásicas de rabia, DBV y Duvenhage, mientras que la protección era nula contra Mokola y solo parcial contra el virus del murciélagos de Lagos.

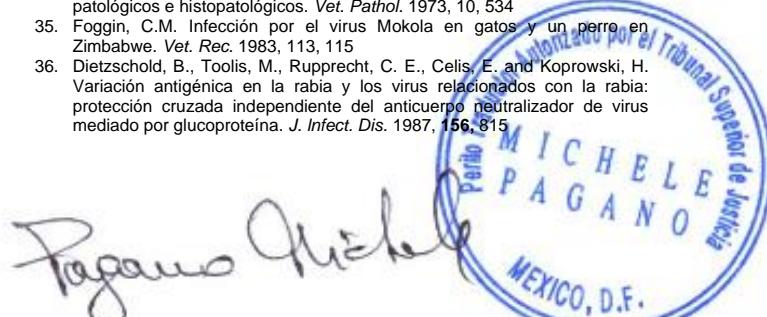
Los índices de protección de las tres vacunas contra DBV y DUV-1 fueron similares. Las tres vacunas utilizadas solo proporcionaron protección parcial contra el aislado finlandés, que se elimina antigenicamente de las cepas de Duvenhage y otras cepas clásicas de la rabia. Aunque no se investigaron otros mecanismos específicos de protección, los estudios en animales realizados en nuestro laboratorio sugieren que los humanos y animales vacunados con las vacunas comerciales contra la rabia estudiadas pueden estar protegidos contra la exposición al virus Duvenhage (murciélagos danés).

## Reconocimientos

Los autores agradecen al fallecido Dr. Tadeusz J. Wiktor, Instituto Wistar, Filadelfia, Pensilvania, por su generosa donación de los monoclonales, a los doctores E. Stougaard y H. Westergaard por suministrarnos la vacuna Rabisin y al Dr. V. Bitsch por enviarnos el virus del murciélagos danés utilizado en este experimento.

## Referencias

1. Westergaard, J.M. Medidas aplicadas en Dinamarca para controlar las epizootias de la rabia en 1977-80. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1982, 5, 383
2. Mollgaard, S. Rabia de murciélagos en Dinamarca. *Rabies Bull. Eur.* 1985, 3, 3
3. Grauballe, P.C., Baagoe, H.J., Fekadu, M. and Zoffman, N. Rabia de murciélagos en Dinamarca. *Lancet* 1987, 1, 379
4. Centros para el Control de Enfermedades. Rabia de murciélagos en Europa. *Morbid. Mortal. Week Rep.* 1986, 35, 430
5. Boletín de Rabia en Europa (Eds Schneider, L.G., Mueller, W.W. and Hohnsbein, K.P.) Vol. 11, No. 4, 1987, pp. 12-14
6. Boletín de Rabia en Europea (Eds Schneider, L.G., Mueller, W.W. and Hohnsbein, K.P.) Vol. 11, No. 3, 1987, pp. 1-8
7. Schneider, L.G. Variantes antigenicas del virus de la rabia. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1982, 5, 101
8. Meredith, C.D., Rossouw, A.P. y Van Praag, K.H. Un caso inusual de rabia humana que se cree que es de origen quiróptero. *S. Afr. Med. J.* 1971, 45, 767
9. Schneider, L.G., Bernard, B.J.H. and Schneider, H. P. Aplicación de anticuerpos monoclonales para investigación epidemiológica y estudios de vacunas orales. I. Virus africanos. En: La rabia en los trópicos (Eds Kuwert, E., Merieux, C., Koprowski, H. and Bogel, K.) Springer-Verlag, Berlin-New York, 1985, pp. 47-59
10. Atanasiu, P. and Tsiang, H. Connaissances actuelles sur les propriétés et le pouvoir vaccinant de la glycoprotéine rabique. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1979, 1, 179
11. Shope, R.E. Virus relacionados con la rabia. *Yale J. Biol. Med.* 1982, 55, 271
12. Wiktor, T.J., Macfarlan, R.I., Foggin, C.M. and Koprowski, H. Análisis antigenico de la rabia y el virus Mokola de Zimbabwe utilizando anticuerpos monoclonales. *Dev. Biol. Stand.* 1984, 57, 199
13. Koprowski, H., Wiktor, T.J. and Abelseth, M.K. Reactividad cruzada y protección cruzada: variantes del virus de la rabia y virus relacionados con la rabia. En: La rabia en los trópicos (Eds Kuwert, E., Merieux, C., Koprowski, H. and Bogel, K.) Springer-Verlag, Berlin-New York, 1985, pp. 38-39
14. Bijlenga, G. and Hernandez-Baumgarten, E.M. Un virus de la rabia purificado por placa (cepa V-319) derivado de un murciélagos vampiro (*Desmodus rotundus*) en México: potencial de vacuna. *Cornell Vet.* 1984, 74, 155
15. Centros para el Control de Enfermedades. Rabia humana - Kenya. *Morbid. Mortal. Week Rep.* 1983, 32, 494
16. Lumio, J., Hillbom, M., Rione, R., Ketonen, L., Haltia, M., Valle, M. et al. Rabia humana de origen de murciélagos en Europa. *Lancet* 1986, i, 378
17. Smith, J.S. Estudios de anticuerpos monoclonales de la rabia en murciélagos insectívoros de los Estados Unidos. *Rev. Infect. Dis.* 1988, in press.
18. Smith, J.S., Sumner, J.W., Roumillat, L.F., Baer, G.M. and Winkler, W.G. Características antigenicas de los aislamientos asociados con una nueva epizootica de la rabia mapache en los EE. UU. *J. Infect. Dis.* 1984, 149, 769
19. Smith, J.S., Sumner, J.W. and Roumillat, L. F. Inmunoensayo enzimático para anticuerpos contra la rabia en fluidos de hibridoma y su aplicación para la diferenciación de cepas de virus de la rabia de calle y laboratorio. *J. Clin. Microbiol.* 1984, 19, 267
20. Wiktor, T.J. and Koprowski, H. Anticuerpos monoclonales contra el virus de la rabia producidos por hibridación de células somáticas: Detección de variantes antigenicas. *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.* 1978, 75, 3938
21. Smith, J.S., Yager, P.A. and Baer, G.M. Una prueba rápida de cultivo de tejidos para determinar el anticuerpo neutralizante de la rabia. En: *Técnicas de Laboratorio en Rabia* (Eds Kaplan, M.M. and Koprowski, H.) 3rd Edn, WHO, Geneva, Switzerland, 1973, pp. 354-357
22. White, L.A. and Chappell, W.A. Inactivación del virus de la rabia en reactivos utilizados para la prueba de anticuerpos fluorescentes contra la rabia. *J. Clin. Microbiol.* 1982, 16, 253
23. Seligmann, Jr., E. B. La prueba NIH para potencia. En: *Técnicas de Laboratorio en Rabia* (Eds Kaplan, M.M. and Koprowski, H.) 3rd Edn, WHO, Geneva, Switzerland, 1973, pp. 279-286
24. Habel, K. Prueba de Habel modificada para potencia. En: *Técnicas de Laboratorio en Rabia* (Eds Kaplan, M.M. and Koprowski, H.) 3rd Edn, WHO, Geneva, Switzerland, 1973, pp. 276-278
25. Lorenz, R.J. and Bogel, K. Métodos de cálculo. En: *Técnicas de Laboratorio en Rabia* (Eds Kaplan, M.M. and Koprowski, H.) 3rd Edn, WHO, Geneva, Switzerland, 1973, pp. 321-329
26. Wiktor, T.J., MacFarlan, R.I., Reagan, K.J., Dietzschold, B., Curtis, P.G., Wunner, W.H. et al. Protección contra la rabia por un virus vaccinia recombinante que contiene el gen de la glucoproteína del virus de la rabia. *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.* 1984, 81, 7194
27. Banerjee, A.K. Transcripción y replicación de rabdovirus. *Microbiol. Rev.* 1987, 51, 66
28. Wiktor, T.J., Gyorgy, E., Schlumberger, H.D. et al. Propiedades antigenicas de los componentes del virus de la rabia. *J. Immunol.* 1973, 110, 269
29. Soulebot, J. P., Brun, A., Chappins, G., Guillemin, F., Peterman, H.G., Precausta, P. and Terre, J. Rabia experimental en gatos: respuesta inmune y persistencia de la inmunidad. *Cornell Vet.* 1981, 71, 311
30. Sureau, P., Rollin, P. and Wiktor, T.J. Análisis epidemiológico de las variaciones antigenicas del virus de la rabia callejera: detección por anticuerpos monoclonales. *Am. J. Epidemiol.* 1983, 117, 605
31. Flamand, A., Wiktor, T.J. and Koprowski, H. Uso de anticuerpos monoclonales de hibridoma en la detección de diferencias antigenicas entre la rabia y las proteínas del virus relacionadas con la rabia. I. La proteína nucleocápside. *J. Gen. Virol.* 1980, 48, 97
32. Smith, J.S., Reid-Sanden, F.R., Roumillat, L.F., Trimarchi, C., Clark, K., Baer, G.M. and Winkler, W.G. Demostración de la variación antigenica entre los aislados del virus de la rabia mediante el uso de anticuerpos monoclonales contra las proteínas de la nucleocápside. *J. Clin. Microbiol.* 1986, 24, 573
33. Tignor, G.H. and Shope, R.E. Vacunación y desafío de ratones con virus o el serogruppo de la rabia. *J. Infect. Dis.* 1972, 125, 322
34. Percy, D. H., Bhatt, P.N., Tignor, G.H. and Shope, R. E. Infección experimental de perros y monos con dos virus de serogruppo de rabia, murciélagos de Lagos y Mokola (Iban 27-377). Grandes cambios patológicos e histopatológicos. *Vet. Pathol.* 1973, 10, 534
35. Foggin, C.M. Infección por el virus Mokola en gatos y un perro en Zimbabwe. *Vet. Rec.* 1983, 113, 115
36. Dietzschold, B., Toolis, M., Rupprecht, C. E., Celis, E. and Koprowski, H. Variación antigenica en la rabia y los virus relacionados con la rabia: protección cruzada independiente del anticuerpo neutralizante de virus mediado por glucoproteína. *J. Infect. Dis.* 1987, 156, 815



37. Dietzschold, B., Wang, H., Rupprecht, C. E., Celis, E., Tolis, M., Erel, H., Heber-Katz, E. and Koprowski, H. inducción de inmunidad protectora contra la rabia mediante inmunización con ribonucleoproteína del virus de la rabia. *Proc. Natl Acad. Aci. EE. UU.* 1987, **84**, 9165
38. Lafon, M., Herzog, M. and Sureau, P. Las vacunas humanas contra la rabia inducen anticuerpos neutralizantes contra el virus del murciélagos europeo (Duvenhage). *Lancet* 1986, ii, 5151
39. Lafon, M., Ideler, J. and Wunner, W.H. Investigación de la estructura antigenica de la glucoproteína del virus de la rabia por anticuerpos monoclonales. *Dev. Biol. Stand.* 1983, 57, 219

Vacuna, Vol. 6, Diciembre de 1988 539

Michele Pagano, Perito Traductor debidamente autorizado por el Tribunal Superior de Justicia de la Ciudad de México, CERTIFICO: que las que anteceden son, a mi leal saber y entender, traducción fiel y correcta del documento en inglés que tuve a la vista.

Ciudad de México, 31 de julio de 2020.

Michele Pagano

