

1-1-2007

Determinación de la duración del periodo de protección serológica contra la rabia en caninos de criaderos en la Sabana de Bogotá

Adriana Paola Garzón Calderón
Universidad de La Salle

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria

Citación recomendada

Garzón Calderón, A. P. (2007). Determinación de la duración del periodo de protección serológica contra la rabia en caninos de criaderos en la Sabana de Bogotá. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/272

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**DETERMINACIÓN DE LA DURACIÓN DEL PERIODO DE PROTECCIÓN
SEROLÓGICA CONTRA LA RABIA EN CANINOS DE CRIADEROS EN LA
SABANA DE BOGOTÁ**

ADRIANA PAOLA GARZÓN CALDERÓN.

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C.**

2007

**DETERMINACIÓN DE LA DURACIÓN DEL PERIODO DE PROTECCIÓN
SEROLÓGICA CONTRA LA RABIA EN CANINOS DE CRIADEROS EN LA
SABANA DE BOGOTÁ**

ADRIANA PAOLA GARZÓN CALDERÓN.

CÓDIGO: 14011055

Trabajo de grado para optar al título de Médico Veterinario

DIRECTOR

Javier Eduardo Gómez Meza

Médico Veterinario

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

BOGOTÁ D.C.

2007

DIRECTIVOS

RECTOR	Hermano Fabio Gallego Arias
VICERRECTOR ACADÉMICO	Hermano Carlos Gómez Restrepo
VICERRECTOR DE PROMOCIÓN	Hermano Edgar Figueroa Abrajim
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO	Dr. Mauricio Fernández Fernández
DECANO DE LA FACULTAD M.V.	Dr. Pedro Pablo Martínez Méndez
SECRETARIO ACADÉMICO	Dra. Maria Teresa Uribe Mallarino
DIRECTOR CLÍNICA	Dr. Humberto Vásquez Romero

APROBACIÓN

DIRECTOR

JAVIER EDUARDO GÓMEZ M.

JURADO

AUDREY CALDERÓN B.

JURADO

RUTH MIRYAM VALBUENA S.

SECRETARIO ACADÉMICO

MARIA TERESA URIBE M.

COMPROMISO

Los trabajos de grado no deben contener ideas que sean contrarias a la doctrina de la iglesia católica en asuntos de dogma y moral.

Ni la universidad, ni el asesor, ni el jurado calificador son responsables por las ideas expuestas por el graduando.

DEDICATORIA

A Dios que me proporciono la
sabiduría para poder realizar
mi carrera, a mis padres
Quienes me apoyaron
brindándome comprensión
y amor durante toda
mi carrera y mi vida. A mi
sobrino el cual me dio una
lección de vida para cada día
tener mas fortaleza en los
momentos duros de mi vida.
Y a todas aquellas personas
las cuales me brindaron su
apoyo para que pudiera
realizar uno de mis sueños.

(Paola garzón C.)

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos a:

Dr. Javier Gómez MV. y Director de la tesis, por sus valiosas orientaciones.

Dr. Andrés Paéz Biólogo, por su colaboración en el área de virología.

Doctoras Audrie Calderòn y Ruth Miriam Valbuena, jurados de la tesis por su constante motivación.

A mis padres y amigos por su apoyo incondicional y a todos los que hicieron posible que esta tesis se realizara.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. OBJETIVOS	3
1.1 OBJETIVO GENERAL	3
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	3
2. DESCRIPCION DEL PROYECTO.	4
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y SU JUSTIFICACIÓN EN TÉRMINOS DE SUS NECESIDADES Y PERTINENCIA.	4
2.2 MARCO TEÓRICO	6
2.2.1 Generalidades.	6
2.2.2 Situación actual de la rabia urbana en Colombia.	7
2.2.3 Vacunación contra la rabia en Colombia.	10
2.2.4 Medición de anticuerpos anti-rábitos neutralizantes en el suero.	10
3. MATERIALES Y METODOS.	12
3.1 MATERIALES	12
3.1.1 Materiales para el trabajo de campo	12
3.1.2 Materiales para el trabajo de laboratorio	13
3.2 METODOLOGIA	14
3.2.1 Localización.	14
3.2.2 La población y muestra de estudio.	14
3.2.3 Variables.	14
3.2.4 Análisis estadístico.	14
3.2.5 Métodos y procedimientos.	15
4. RESULTADOS	17
4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS ZONAS DE MUESTREO	17
4.2 ACTITUD DE LOS CRIADEROS HACIA EL TRABAJO DE CAMPO	17

4.3	RESULTADOS DE LA TOMA DE SANGRE Y RECOLECCIÓN DEL SUERO	18
4.4	CARACTERIZACIÓN DE LOS CANINOS DE LA MUESTRA DE ESTUDIO.	18
4.5	PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS CONTRA LA RABIA EN LOS CRIADEROS DE SABANA DE BOGOTÁ.	19
4.6	PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS CONTRA INFECCIÓN RÁBICA EN CRIADERO A.	20
4.7	PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS CONTRA INFECCIÓN RÁBICA EN CRIADERO B.	21
4.8	PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y PROMEDIO DEL TÍTULO DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS NEUTRALIZANTES SEGÚN INTERVALOS DE EDAD.	21
4.9	DISTRIBUCIÓN POR CONCENTRACIONES DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS EN LOS CANINOS OBJETO DE ESTUDIO EN LOS CRIADEROS DE LA SABANA DE BOGOTA.	25
4.10	DISTRIBUCIÓN POR SEXO EN LOS CANINOS DE CRIADEROS EN LA SABANA DE BOGOTÁ.	25
4.11	DISTRIBUCIÓN POR CONCENTRACIONES EN MACHOS Y HEMBRAS DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS EN LOS CANINOS DE CRIADEROS DE LA SABANA DE BOGOTÁ.	26
4.12	CANINOS REPORTADOS EN LAS ENCUESTAS COMO VACUNADOS CONTRA LA RABIA (PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS)	28
4.13	DISTRIBUCIÓN POR RAZA EN LOS CANINOS DE CRIADEROS EN LA SABANA DE BOGOTÁ.	29

4.14 DISTRIBUCIÓN POR CONCENTRACIONES EN PASTORES	29
ALEMANES Y LABRADORES DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS	
EN LOS CANINOS DE CRIADEROS DE LA SABANA DE BOGOTÁ	
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
6. CONCLUSIONES	38
7. RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFIA	42

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos a nivel de criaderos en la sabana de Bogotá.	20
Figura 2. Distribución de los caninos desprotegidos y protegidos contra infección rábica en el criadero A.	20
Figura 3. Distribución de los caninos desprotegidos y protegidos contra infección rábica en el criadero B.	21
Figura 4. Porcentaje de caninos protegidos y promedio del título de anticuerpos antirrábicos neutralizantes según intervalos de edad.	24
Figura 5. Distribución por concentraciones de anticuerpos anti-rábicos (UI/ml) en los caninos objeto de estudio en los criaderos de la sabana de Bogotá.	25
Figura 6. Distribución de los caninos de la muestra de estudio por sexos en los criaderos de la sabana de Bogotá.	26
Figura 7. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos distribuidos por sexos.	27

Figura 8. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de los machos.	27
Figura 9. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de las hembras	28
Figura 10. Porcentaje de caninos reportados como vacunados contra la rabia (protegidos y no protegidos).	28
Figura 11. Distribución de los caninos de la muestra de estudio por raza en los criaderos de la sabana de Bogotá.	29
Figura 12. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos distribuidos por raza	30
Figura 13. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de los Pastores alemanes.	31
Figura 14: Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de las hembras.	31
Figura 15: Porcentaje de la cobertura de vacunación reportada a nivel de criaderos 2006, Vs porcentaje de caninos protegidos realmente.	34

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Porcentaje de caninos protegidos y promedio del título de anticuerpos anti-rábitos neutralizantes según intervalos de edad.	23

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo. INFORMACION GENERAL DEL CANINO	47
Anexo. PRODUCTOS GENERADOS	48
<ul style="list-style-type: none">• Relacionados con la generación de conocimiento y/o nuevos desarrollos tecnológicos.• Conducentes al fortalecimiento de la capacidad científica nacional.• Dirigidos a la apropiación social del conocimiento.	

RESUMEN

En Colombia el esquema de vacunación anti-rábica en caninos corresponde a una primera dosis a los tres a cuatro meses de edad y un refuerzo cada año. Sin embargo se carece de estudios que determinen si realmente es necesario utilizar este intervalo de tiempo. Por lo anterior es una prioridad en el campo de la salud pública en Colombia la medición del tiempo de protección que confiere la primera dosis y los refuerzos de vacuna anti-rábica en caninos con el fin de observar si los esquemas de vacunación son adecuados, y con ello poder optimizar al máximo los recursos destinados para vacuna anti-rábica canina. La muestra de estudio corresponde a 16 caninos con edades de 4 a 18 meses, pertenecientes a dos criaderos ubicados en la sabana de Bogota, los caninos deben haber recibido únicamente la primera dosis de la vacuna anti-rábica. A los 16 caninos se les tomara una muestra de sangre cada mes durante 5 meses hasta completar un número total de 72 muestras a las cuales se les realizará una prueba de Inmunodiagnostico de anticuerpos anti-rabicos por ELISA; cuyo objetivo es detectar anticuerpos neutralizantes del virus rábico, en el suero o en el plasma de los animales (Engvall & Perlmann 1971, Atanasiu *et al* 1978, Atanasiu *et al* 1980). Del análisis de la información obtenida se inferirá si el tiempo de duración de los anticuerpos es acorde con el esquema de vacunación actual, y con la información obtenida poder realizar las recomendaciones que correspondan.

Palabras claves: rabia, ELISA, anticuerpos antirrabicos.

ABSTRACT

In Colombia the anti-rabic vaccination scheme in canines corresponds to a first dose from three to four months of age and a reinforcement every year. However it lacks of studies that really measure the need of using this timing. Having said this, it is a priority for the Public Health field in Colombia to measure the time of protection granted by the first dose and the reinforcements of an anti-rabic vaccination in canines in order to observe whether those vaccination schemes are adequate and with this to optimize at most the resources addressed to canine anti-rabic vaccination. The sample for study corresponds to 16 dogs with ages between 4 and 18 months, belonging to two breeders located in Bogota, the dogs are receive just the first dose of the vaccination. A blood sample was taken from the dogs each month during a 5-month period until completing a total figure of 72 samples which will be developed an immunodiagnostic of anti-rabic by ELISA; whose target is detecting neutralizing antibodies of the virus, in the serum or the plasma in animals (Engvall & Perlmann 191, Atanasiu et al 1978, Atanasiu et al 1980). It will be defined whether the time of antibodies lasting goes with the current vaccination scheme from the analysis of the gathered information, so then carrying out the corresponding recommendations.

Key words: Rabies, ELISA, antirabics antibodies.

INTRODUCCIÓN

La rabia es una enfermedad de origen viral que afecta a los mamíferos y es transmitida al hombre por contacto a través de la saliva de animales infectados, este virus es usualmente introducido por mordedura, también a través de la piel y mucosas lesionadas como resultados de lameduras.; el virus de la rabia genera una encefalitis de carácter terminal, la cual es causada por un virus neurotrópico del género *Lyssavirus*, familia *Rhabdoviridae*, orden Mononegavirales (Meslin *et al* 1994).

En Colombia, existen muchos factores que pueden estar conduciendo a un cambio en la epidemiología de las enfermedades transmisibles. La disminución de ingresos de la población, una nutrición deficiente con el consiguiente compromiso inmunológico; los grandes desplazamientos poblacionales que llevan a hacinamiento en lugares donde los servicios básicos son inadecuados y la cultura frente a la tenencia de animales de compañía, amplían los factores de riesgo frente a este tipo de enfermedades, causando su persistencia, o bien su reemergencia, por lo que los patrones de enfermedad pueden estar cambiando. Esto sugiere que los programas de vigilancia, prevención y control deben adaptarse a estas nuevas condiciones, por lo que se requeriría de una sólida fundamentación en medidas básicas de detección y control.

El presente trabajo de investigación fue realizado a nivel de criaderos de la sabana de Bogotá, donde participaron 2 criaderos con 16 caninos en total los cuales tenían edades entre 4 a 18 meses y se encontraban primovacunados contra el virus de la rabia, estos caninos se les realizó un seguimiento durante un periodo de 5 meses mediante la toma de muestras de sangre mensual para evaluar el nivel de anticuerpos anti-rábicos seroprotectivos como respuesta a la

primovacunacion contra el virus de la rabia (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.2006).

Para tal propósito se realizó la toma de sangre de los caninos pertenecientes a la muestra de estudio, y los sueros se procesaron por medio de una prueba de ELISA, utilizando el Estuche PLATELIA®.RABIA de BIO-RAD. Posteriormente los resultados obtenidos fueron analizados.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la protección serológica contra la rabia en caninos de criaderos en la sabana de Bogota después de la primovacunación.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar durante un periodo de 5 meses la respuesta inmune humoral a la primovacunación contra la rabia mediante la titulación de anticuerpos anti-rabicos por ELISA en las muestras de suero recolectadas.
- Describir los niveles de inmunidad conferida por la primovacunación contra el virus de la rabia en caninos de dos criaderos de la sabana de Bogotá los cuales se encuentran en edades entre 4 a 18 meses y se les realizara un seguimiento cada mes durante un periodo de 5 meses.
- Determinar el periodo de protección serológica post- primovacunación en caninos de dos criaderos de la Sabana de Bogotá.
- Divulgar los resultados a nivel de criaderos, realizando conferencias científicas en eventos nacionales e internacionales y un artículo científico que será enviado para publicación en una revista colombiana indexada.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Colombia en la última década se han vivido cambios socioculturales que han modificado hábitos, conductas y estilos de vida por ello se ha presentado una tendencia creciente a la tenencia de animales domésticos como mascotas. El desplazamiento forzado de habitantes desde zonas rurales ha acelerado el proceso de urbanización normal y subnormal, en los cuales el tamaño de la vivienda, el tipo de construcción y la tenencia inadecuada de mascotas, constituyen factores de riesgo para el incremento de la incidencia enfermedades zoonóticas, como la rabia. Aunque en los últimos años, la situación epidemiológica de la rabia canina en Colombia ha mejorado ostensiblemente lo cual se ha reflejado en la notable reducción del número de casos anuales (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.). Sin embargo aun hay deficiencias pues el hecho de que se presente un solo caso bastaría para generar una alerta epidemiológica, hasta no lograr su erradicación, la rabia canina continuará siendo un problema de salud pública.

La capacidad de respuesta específica del sistema inmune frente a la vacuna anti-rábica puede no funcionar eficazmente, debido a múltiples factores que pueden ser propios de los animales como estrés, tratamiento con antibióticos, inmunosupresión, calidad de la dieta, malnutrición, gestación, altos niveles de anticuerpos maternos, parasitismo, enfermedades, o fallas en el manejo de la vacuna como inadecuada cadena de frío, fallas en la aplicación o bajos niveles de potencia.

En Colombia a nivel de criaderos de la sabana de Bogotá se maneja un esquema de vacunación anti-rábica el cual corresponde a una primera dosis a los cuatro meses de edad y un refuerzo cada año. Es importante saber si el intervalo de tiempo entre la primovacuna contra el virus de la rabia y el refuerzo es adecuado, o si es necesario aplicar un refuerzo antes o después del año de haber aplicado la primera dosis. Con el presente proyecto de investigación se observó el tiempo de duración máximo durante el cual los caninos presentan protección serológica contra la rabia después de la primovacuna.

Para lo anterior, se seleccionaron 16 caninos de edades entre los 4 y los 18 meses que hayan recibido solo la primera dosis de vacuna anti-rábica a los cuales se les realizó un seguimiento durante 5 meses, hasta obtener al final del proyecto un total de 72 muestras.

A estos caninos se les realizó un seguimiento mediante la obtención de una muestra de suero mensual para medir por ELISA la concentración de anticuerpos anti-rálicos neutralizantes. De esta manera el presente proyecto de investigación está diseñado para dar respuesta a la pregunta ¿Cuál es el periodo de protección serológica contra la rabia después de la primera dosis de vacuna en caninos?, y con ello saber si es adecuado el actual sistema de vacunación que contempla el primer refuerzo un año después de la primovacuna. Los resultados del presente proyecto de investigación se constituirán en una herramienta valiosa para el mejoramiento y la optimización de recursos en cuanto al esquema de la vacunación anti-rábica canina se refiere, teniendo en cuenta que en Colombia existen 4.224.575 caninos (Secretaría Distrital de Salud, Censo canino 2005) que deben ser vacunados contra la rabia.

2.2 MARCO TEORICO

2.2.1 Generalidades. La enfermedad de la rabia es una encefalitis de carácter fatal, causada por virus neurotrópicos del género *Lyssavirus*, familia *Rhabdoviridae*, orden Mononegavirales (Meslin *et al* 1994). Se caracteriza por tener un genoma compuesto de una banda sencilla de ARN en sentido negativo, el cual no es segmentado y codifica cinco proteínas estructurales (Wunner *et al* 1988). La familia se divide en: *Vesiculovirus*, el cual incluye los virus causantes de la estomatitis vesicular y virus relacionados antigénicamente con el género *Lyssavirus*. La nomenclatura actual reconoce a todos los miembros de éste género como virus de la rabia, ya que todos producen en los mamíferos una encefalomiелitis aguda.

La rabia es principalmente una enfermedad de las especies animales y es por esto que la epidemiología de la rabia en la especie humana es un reflejo de la distribución de los virus rábicos en animales y también del grado de contacto entre humanos y animales infectados con el virus. Se calcula que cerca de 35,000 casos de rabia humana ocurren cada año en el mundo de acuerdo con los resultados de vigilancia epidemiológica de la O.M.S. La infección con virus rábicos ocurre en dos formas epidemiológicas diferentes:

A) la rabia urbana, con el perro como principal reservorio y transmisor de la enfermedad a los humanos.

B) la rabia silvestre, con diferentes especies animales silvestres como el zorro, el vampiro, el chacal y otros que actúan como reservorios y transmisores de la enfermedad entre estos mismos y a especies ganaderas de interés económico como equinos, bovinos, porcinos, caprinos entre otros.

Eventualmente ocurre la transmisión de la rabia entre los dos ciclos epidemiológicos anteriores, resaltando de esta manera el riesgo potencial que presenta para los humanos la enfermedad en cualquier especie animal.

2.2.2 Situación actual de la rabia urbana en Colombia. La rabia, en sus dos formas epidemiológicas diferentes (rabia urbana y rabia silvestre) es endémica en la mayoría de países latinoamericanos incluyendo a Colombia.

Actualmente la transmisión de los virus de la rabia representa una gran amenaza para la salud de la población colombiana. Durante el periodo 1992-2005 se registraron en el país 1071 casos de rabia urbana en caninos y 60 en humanos (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.). El 95% de estos casos se concentró en sólo tres regiones del país y el 5% restante se distribuyó como casos aislados en 15 departamentos (Ministerio de Salud República de Colombia 1995, Rico *et al* 2001, Páez *et al* 2003a, Páez *et al* 2003b, Hughes *et al* 2004). Las tres regiones implicadas incluyen el altiplano cundíboyacense (departamentos de Boyacá y Cundinamarca), el departamento de Arauca y la región Caribe (departamentos de Atlántico, Bolívar, Cesar, Córdoba, Magdalena y Sucre).

La transmisión del virus de la rabia urbana en el altiplano CundíBoyacense y Arauca se controló con vacunación en 1997, mientras que en la región Caribe sigue siendo un grave problema de salud pública, particularmente en el departamento de Magdalena, en poblaciones como Pivijay, Ciénaga, Aracataca, y Fundación (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.).

En los años 2003 a 2007 se ha notado una pronunciada disminución en el número de casos de rabia canina en Colombia con respecto a los años anteriores, lo cual resulta muy positivo para el programa de control de la rabia urbana en Colombia.

Es así como en 2003 se presentaron 12 casos en perros, en 2004 se presentaron 9 casos (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.). En el mes de septiembre de 2003 ocurrió la muerte de una persona en Quipile departamento de Cundinamarca, por ataque de un gato infectado con rabia. Los análisis posteriores indicaron que en este caso se trató de rabia originaria del ecosistema silvestre, la cual por sus dinámicas de transmisión geográficas e inter-especies, se encuentra fuera del alcance de los programas de vacunación (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.). Por lo anterior el hecho constituyó un desafortunado accidente que resalta aun más la amenaza para la salud pública que representa la enfermedad transmitida en los ecosistemas silvestres en cualquier lugar del país.

En los meses de abril y mayo de 2004 se reportó la ocurrencia de un brote de rabia en humanos en el bajo Baudó, departamento del Chocó, en el cual los quirópteros hematófagos fueron los transmisores del virus causando la muerte a por lo menos 14 personas. En el mes de enero de 2005 se presentó un resurgimiento de este mismo brote con otras 3 personas. La totalidad de personas muertas en el brote de Chocó y el caso de Quipile en Cundinamarca correspondieron a menores de edad.

Desde el año 2000, la población de zorros silvestres en los departamentos de Atlántico y Magdalena se ha visto afectada por la rabia. Desde ese año, un total de 25 zorros han sido registrados positivos para la enfermedad (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.). Desconociéndose aún la magnitud real del problema, debido al alto sub-registro existente en el ecosistema silvestre. La rabia en zorros complica mucho la situación en la región

Caribe, dada la dificultad para controlar la enfermedad en animales silvestres sin dueño y el continuo contacto de estos con los campesinos de la región y sus mascotas. En el año 2005 el Laboratorio de Rabia del Grupo de Virología del Instituto Nacional De Salud en Bogotá D.C., implementaron técnicas sofisticadas de virología molecular y epidemiología molecular enfocadas en investigar el número de variantes genéticas de la rabia urbana y en elucidar las dinámicas de transmisión geográfico-temporales de cada una de estas, obteniéndose resultados de gran impacto en salud pública (Páez *et al* 2002, Páez *et al* 2003a, Páez *et al* 2003b, Hughes *et al* 2004). Fue con este tipo de estudios por ejemplo, que se logró investigar que la rabia en los zorros de la región Caribe se originó por contacto con la población de perros infectados (Páez *et al.* 2005a).

Entre diciembre del 2006 y enero de 2007 se presentó un brote de rabia humana de origen canino donde cuatro personas murieron como consecuencia de la mordedura de perros infectados con el virus de la enfermedad en la región del Caribe (Santa Marta). El Instituto Nacional de Salud confirmó tres casos, luego de analizar las biopsias tomadas a los fallecidos, y recibió la muestra de un niño que murió con síntomas característicos de rabia. Según informes de la Secretaría de Salud de Santa Marta, al parecer las víctimas fueron mordidas en septiembre. La primera falleció el 5 de noviembre, la segunda 20 días después y la tercera el 16 de enero.

Desde que se sospechó de la presencia del virus, se emprendió la vacunación masiva de perros (a la fecha se han inmunizado 22.463). Y tomaron la decisión que los perros callejeros sean recogidos por las autoridades, vacunados contra la rabia, y si dentro de las 72 horas no son reclamados por sus dueños, serán sacrificados.

2.2.3 Vacunación contra la rabia en Colombia. Actualmente la vacunación anti-rábica preventiva de mascotas, específicamente de gatos y perros, es una herramienta que se utiliza en salud pública para el control de la rabia en Colombia así como en muchos otros países. Lo anterior se complementa con el tratamiento preventivo a personas que han sido mordidas por un animal potencialmente transmisor de la rabia, o a personas que se encuentran potencialmente expuestas a sufrir un accidente rabico por su desempeño laboral, como veterinarios, biólogos y técnicos de laboratorios de diagnóstico, investigación y producción de vacunas, en los cuales se trabaje con el virus de la rabia.

Las vacunas anti-rábicas han tenido un desarrollo sumamente rápido en los últimos años. Es así como en Colombia hasta mediados de los años 90 todavía se utilizaba la vacuna inactivada producida en cerebro de ratones lactantes, para humanos y para mascotas como gatos y perros. La mencionada vacuna fue dejada de usar debido a las complicaciones neurológicas que se presentaban en un porcentaje de pacientes vacunados, los cuales presentaban encefalopatías post-vacunales debido a un proceso de desmielinización autoinmune desencadenada por la presencia de encefalitógeno (proteína de la mielina) y su consecuente parálisis de las extremidades, esta es la complicación neurológica más conocida en humanos y animales. Actualmente la vacuna que se aplica en Colombia para humanos y mascotas es producida en cultivo celular, y no presenta complicaciones post-vacúnales.

2.2.4 Medición de anticuerpos anti-rábitos neutralizantes en el suero. La medición de los anticuerpos anti-rábitos neutralizantes se realiza para evaluar el grado de inmunidad de los sujetos vacunados contra la rabia. Expertos de la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) han considerado que un titulo de anticuerpos igual o superior a 0.5 UI/ml en suero confiere cierta protección contra la infección, lo que no implica que cada vez que se tenga una exposición al virus

(por accidente de laboratorio o por mordedura de perro rabioso) no se tenga que recibir los refuerzos necesarios. Se ha comprobado en efecto que los animales que tienen tal porcentaje de anticuerpos resisten a la infección experimental provocada por inyección del virus rábico salvaje.

Para la medición de anticuerpos contra la rabia en suero existen principalmente dos metodologías estandarizadas:

- Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) la cual es una prueba de inhibición de la infección rábica en cultivos celulares (Cleaveland *et al* 1999).
- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Engvall & Perlmann 1971), Esta última se encuentra ampliamente comercializada por compañías como BIO-RAD® que la ofrecen a manera de estuche (PLATELIA RABIA de BIO-RAD) ®.

Estas metodologías han sido comparadas entre si observándose siempre una estrecha correlación entre los resultados obtenidos por cada una, indicando así la alta especificidad y sensibilidad de ambas (Mebatsion *et al* 1992, Cleaveland *et al* 1999). La técnica de la ELISA posee para la dilución fija 1/100 una sensibilidad de 0.3 UI/ml, y cuenta con una especificidad dada por la utilización de la glicoproteína del virus rábico. Esta técnica ha sido utilizada en varios países para la detección y cuantificación de anticuerpos contra la rabia en humanos y en diferentes especies animales vacunadas o no. Las especies que han sido estudiadas comprenden a los humanos, perros, y especies salvajes como zorros y chacales entre otras (Piza *et al* 1999, Mebatsion *et al* 1992, Esterhuysen *et al* 1995, Cleaveland *et al*. 1999, Cliquet *et al* 2000, Wosu & Anyanwu 1990, Strady *et al* 1998, Sallum *et al* 2000). En Colombia se han hecho estudios sero-epidemiológicos para la determinación de los niveles de

anticuerpos anti-rábiticos neutralizantes en caninos de áreas endémicas y no endémicas para la rabia. (Moreno 1998, Páez 2005b), sin embargo se carece de estudios para la determinación del periodo de duración de la protección serológica contra la rabia inducida por vacunación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 MATERIALES PARA EL TRABAJO DE CAMPO

Toma y traslado de muestras de sangre:

- Alcohol antiséptico
- Algodón
- Guantes de cirugía
- Tubos para vacutainer de 7 ml tapa roja sin aditivo
- Agujas para vacutainer 21g x 3/8"
- Jeringas hipodérmicas de 10 ml
- Sonda de caucho
- Marcador de tinta indeleble
- Neveras de icopor portátiles
- Pilas de refrigeración

3.1.2 MATERIALES PARA EL TRABAJO DE LABORATORIO

Separación y almacenamiento de los sueros:

- Centrífuga
- Crioviales de tapa rosca de 2 ml
- Pipetas Pasteur
- Gradillas para crioviales
- Congelador

Materiales a nivel de laboratorio

- Agua esteril 1 litro
- Puntas amarillas 1-200 microlitros.
- Estuche PLATELIA RABIA x 96 Rx.Cat: 357-2200 BIO-RAD
- Canoas plásticas 40 ml. SIGMA
- Micropipeta 1-20 microlitros
- Micropipeta 1-200 microlitros
- Micropipeta 1-1000 microlitros
- Micropipeta multicanal 1-200 microlitros
- Incubadora termostatada
- Vidriería de laboratorio
- Vortex
- Computador
- Lector de ELISA

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Localización. La población de estudio corresponde a los caninos que pertenezcan a criaderos ubicados en Bogotá. La información geográfica, geopolítica y meteorológica se describe a continuación.

Altura: 2.640 msnm

Temperatura media anual de 14 °C

Precipitación anual promedio: 1000 a 1500 mm³

Departamento: Cundinamarca

Municipio: Bogotá

3.2.2 Población y muestra. La muestra de estudio corresponde a dos criaderos:

- *Criadero A:* número de caninos en el estudio 8 (razas: Pastor Alemán 1, Labrador 7)
- *Criadero B:* número de caninos en el estudio 8 (razas: Pastor Alemán 8)

Estos caninos se encuentran entre un rango de edad de 4 a 18 meses y han recibido únicamente la primera dosis de la vacuna anti-rábica polivalente a los cuatro meses de edad. A los caninos se les realizara un seguimiento mensual durante un periodo de 5 meses hasta completar un número de muestras de 72.

3.2.3 Variables. La concentración de anticuerpos anti-rábicos neutralizantes será correlacionada con variables en los caninos que incluyen edad, sexo, raza.

3.2.4 Análisis estadístico. Del análisis de la información obtenida se inferirá si el intervalo que se utiliza actualmente de un año entre la primovacunación y el

primer refuerzo es adecuado o si hay que extenderlo o por lo contrario no es suficiente. La investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo basado en medidas de tendencia central.

3.2.5 Métodos y procedimientos. La selección de los caninos de la muestra de estudio se realizó mediante la visita a diferentes criaderos ubicados en la sabana de Bogotá. Se eligieron aquellos criaderos que voluntariamente quisieron colaborar y además que los caninos cumplieran con los requisitos de la investigación, y mediante la acreditación por medio de carnet en el cual debe tener la primera dosis de vacuna anti-rábica. No se discriminarán los caninos por raza ni por sexo. La muestra estará compuesta por caninos entre los 4 y los 18 meses de edad.

- **Toma de muestras de sangre.** Una vez diligenciado el formulario de información general del canino (anexo 1), y previo consentimiento informado del propietario, se procedió a tomar una muestra de sangre al canino por venopunción en la vena cefálica localizada craneal al antebrazo, con Vacutainer. Se obtuvieron entre 5-10 ml de sangre la cual se almacenó en una nevera portátil de icopor refrigerada. Se separó el suero por centrifugación, se alícuotó, se rotuló y almacenó a -70°C , hasta el momento de la medición de la concentración de anticuerpos anti-rálicos neutralizantes.
- **Inmunodiagnóstico de anticuerpos anti-rálicos por la prueba de elisa.** Para la detección y cuantificación de los anticuerpos contra la rabia en los sueros de los caninos se utilizó el estuche PLATELIA RABIA de BIO-RAD® que constituye una técnica inmunoenzimática para la detección de los anticuerpos anti-glicoproteína del virus rálico, en el suero o en el plasma humano o de animales (Engvall & Perlmann 1971, Atanasiu *et al* 1978, Atanasiu *et al* 1980). La prueba se fundamenta en la utilización de una fase sólida preparada con la

glicoproteína extraída de la membrana del virus inactivado y purificado (Perrin *et al* 1986), y de un conjugado enzimático que corresponde a la proteína A de *Staphylococcus aureus* acoplado a la peroxidasa (Forsgren & Sjoquist 1966, Biderfield *et al* 1975).

La puesta en práctica de la prueba comprende las siguientes etapas de reacción.

- Los sueros para estudiar así como los sueros de control se distribuyen en las cúpulas de las microplacas. Si los anticuerpos anti-glicoproteína están presentes, se ligarán al antígeno viral fijado sobre la fase sólida.
- El conjugado se liga a su vez a las IgG retenidas por la fase sólida.
- La presencia de la enzima inmovilizada se demuestra por incubación en presencia del substrato después de la eliminación de la fracción de conjugado que quedó libre.
- Después de que la reacción se detiene, se efectúa la lectura de las placas en un lector de ELISA a 492 nm. La comparación con un suero de control titulado en UI/ml permite obtener el título de anticuerpos anti-rábitos de los sueros desconocidos.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS ZONAS DE MUESTREO

La muestra de estudio corresponde a dos criaderos:

- *Criadero A*: número de caninos en el estudio 8
- *Criadero B*: número de caninos en el estudio 8

Estos caninos se encuentran entre un rango de edad de 4 a 18 meses y han recibido únicamente la primera dosis de la vacuna anti-rábica polivalente a los tres meses de edad. A los caninos se les realizara un seguimiento mensual durante un periodo de 5 meses hasta completar un número de 80 muestras idealmente, como los caninos del estudio ingresaron a diferentes edades algunos salieron del estudio por que no cumplían los paramentos de edad obteniéndose un total de 72 muestras.

4.2 ACTITUD DE LOS CRIADEROS HACIA EL TRABAJO DE CAMPO

Los dueños de la mayoría de criaderos se mostraron renuentes a la realización del estudio argumentando diferentes razones. Se contactaron inicialmente 25 criaderos, a los cuales se les pidió su colaboración, de los mismos colaboraron tan solo 2 los cuales fueron analizados en este proyecto de investigación.

4.3 RESULTADOS DE LA TOMA DE SANGRE Y RECOLECCIÓN DEL SUERO

Para realizar el estudio a los 16 caninos de los criaderos se les tomo cada mes una muestra de sangre durante un periodo de 5 meses hasta completar un total de 72 muestras y no 80 ya que los caninos que ingresaron después de los 14 meses no se muestrearon igual numero de veces por que sobrepasaban el limite de edad que son 18 meses, de estas muestras se procesaron 72 sueros en la fase de laboratorio con el fin de investigar los títulos de anticuerpos anti-rábicos neutralizantes en cada uno de ellos.

A cada canino se le tomo una muestra de sangre mensualmente por un periodo de 5 meses obteniéndose alrededor de 5 a 7 ml de sangre por venopunción como se describe en la metodología.

La sangre tomada fue centrifugada para separar el suero en crióviales, obteniéndose una cantidad aproximada de 1 a 2 ml de suero por cada muestra. Posteriormente fueron colocados en congelación.

4.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS CANINOS DE LA MUESTRA DE ESTUDIO

Distribución por sexo: la cantidad de animales en el estudio fueron 16 perros, 3 fueron machos lo que corresponde al 18.7%, y 13 fueron hembras lo que corresponde al 81.2%.

Distribución por edad: las edades de los caninos de la muestra de estudio corresponden de 4 a 18 meses los cuales hallan recibido únicamente la primera dosis de la vacuna anti-rábica mixta (polivalente). A los 16 caninos se les realizara un seguimiento mensual durante un periodo de 5 meses.

Distribución por raza: las razas de los criaderos a estudiar corresponden a Pastores alemanes y Labradores. Siendo la mas predominante los pastores alemanes con un total de 9 caninos que corresponden 56.25%, y 7 labradores que corresponden a 43.75%.

Estado general: el 100% de los caninos se encontraron en buen estado de salud, Los caninos de la muestra de estudio habitan en criaderos ubicados en la sabana de Bogotá los cuales son tendidos bajo muy buenas condiciones.

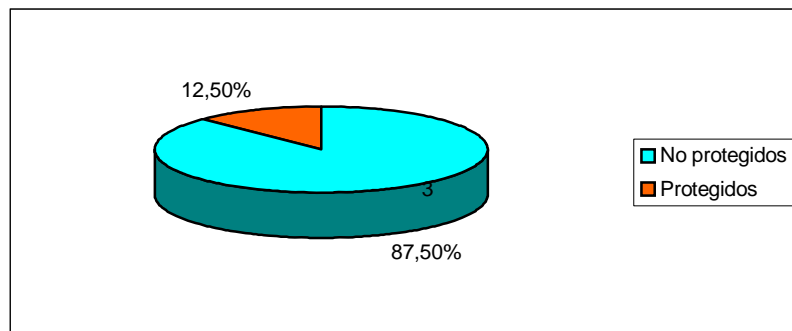
Procedencia: la mayoría de los caninos objetos de estudio son procedentes de Bogotá con el 93.75%, sin embargo existen caninos de otras procedencias como Argentina con el 6.25%.

Hábitos: los caninos de la muestra de estudio no tiene contacto con otras especies. Los caninos pertenecientes al criadero B son de exposición con el 50%, el resto pertenecen al criadero A donde son entrenados para invidentes con el 50%, y se alimentan con un concentrado balanceado.

4.5 PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS CONTRA LA RABIA EN LOS CRIADEROS DE SABANA DE BOGOTÁ

La titulación de anticuerpos anti-rábicos neutralizantes en el suero de los caninos de la muestra de estudio demostró que un total de 2 caninos tuvo una concentración de 0.5 UI/ml o superior lo cual indica que se encuentran protegidos contra una infección con el virus de la rabia. El número de caninos protegidos constituye un 12.5% del total de caninos de la muestra de estudio. En contraste 14 caninos tuvieron una concentración menor de 0.5 UI/ml indicando que estos no presentan protección a infección rábica. Este número constituye un 87.5 % del total de caninos de la muestra del estudio.

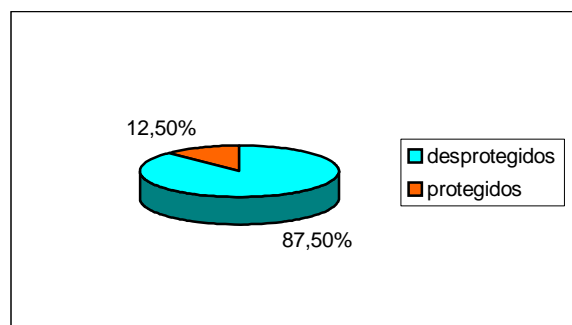
Figura 1. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos a nivel de criaderos en la sabana de Bogotá.



4.6 PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS CONTRA INFECCIÓN RÁBICA EN EL CRIADERO A

De los 8 caninos de este criadero 7 se encuentran desprotegidos serológicamente contra la rabia lo cual corresponde a 87.5%, y 1 canino se encuentra protegido serologicamente contra la rabia con un porcentaje de 12.5%.

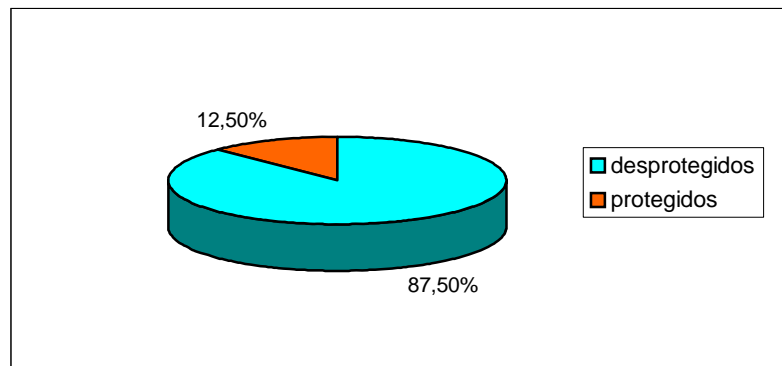
Figura 2. Distribución de los caninos desprotegidos y protegidos contra infección rábica en el criadero A.



4.7 PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS CONTRA INFECCIÓN RÁBICA EN EL CRIADERO B

De los 8 caninos de este criadero 7 se encuentran desprotegidos serológicamente contra la rabia corresponde al 87.5%, y 1 canino se encuentra protegido serologicamente contra la rabia con un porcentaje de 12.5%.

Figura 3. Distribución de los caninos desprotegidos y protegidos contra infección rábica en el criadero B.



4.8 PORCENTAJE DE CANINOS PROTEGIDOS Y PROMEDIO DEL TÍTULO DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS NEUTRALIZANTES SEGÚN INTERVALOS DE EDAD

Los caninos de la muestra de estudio se distribuyeron por edades de 4 a 18 meses, en grupos por mes de edad, se calculó en cada intervalo o grupo el porcentaje de los caninos que presentan protección contra la rabia y el promedio del título de anticuerpos antirrábicos neutralizantes.

En el rango de edad de 4 meses se muestrearon 3 caninos de los cuales ninguno esta protegido contra el virus de la rabia con un 0% el titulo en promedio de este rango de edad es de 0 UI/MI, en el rango de 5 meses se muestrearon 3 caninos de los cuales ninguno esta protegido contra el virus de la rabia con un 0% el titulo promedio de este rango de edad es de 0 UI/MI, en el rango de 6 meses se muestrearon 3 caninos de los cuales ninguno esta protegido contra el virus de la rabia con un 0% el titulo promedio de este rango de edad es de 0 UI/MI, en el rango de 7 meses se muestrearon 3 caninos de los cuales ninguno esta protegido contra el virus de la rabia con un 0% el titulo promedio de este rango de edad es de 0 UI/MI, en el rango de 8 meses se muestrearon 4 caninos de los cuales tres no están protegidos con el 75% contra el virus de la rabia y uno se encuentra protegido contra el virus de la rabia con el 25%; el titulo promedio de este rango de edad es de 4.25 UI/MI, en el rango de 9 meses se muestro 1 canino el cual esta protegido contra el virus de la rabia con un 100% el titulo promedio de este rango de edad es de 10.8 UI/MI, en el rango de 10 meses se muestro 1 canino el cual esta protegidos contra el virus de la rabia con un 100% el titulo promedio de este rango de edad es de 13.3 UI/MI, en el rango de 11 meses se muestrearon 2 caninos de los cuales 1 esta protegido contra el virus de la rabia con un 50% y uno no esta protegido contra el virus de la rabia con un 50% el titulo promedio de este rango de edad es de 4.6 UI/MI, en el rango de 12 meses se muestrearon 6 caninos los cuales 2 están protegidos contra el virus de la rabia con un 33.3% y 4 no están protegidos contra el virus de la rabia con 66.6% el titulo promedio de este rango de edad es de 2.25 UI/MI, en el rango de 13 meses se muestrearon 7 caninos de los cuales uno esta protegido contra el virus de la rabia con un 14.2% y 6 no están protegidos contra el virus de la rabia con un 85.8% el titulo promedio de este rango de edad es de 0.5 UI/MI, en el rango de 14 meses se muestrearon 9 caninos de los cuales 1 esta protegido contra el virus de la rabia con un 11.1% y 8 no están protegidos contra el virus de la rabia con un 88.9% el titulo promedio de este rango de edad es de 0.3 UI/MI, en el rango de 15 meses se muestrearon 10 caninos de los cuales 1 esta protegido contra el virus de la rabia con un 10% y 9

no están protegidos contra el virus de la rabia con un 90% el título promedio de este rango de edad es de 0.23 UI/MI, en el rango de 16 meses se muestrearon 9 caninos de los cuales 1 está protegido contra el virus de la rabia con el 11.1% y 8 no están protegidos contra el virus de la rabia con un 88.9% el título promedio de este rango de edad es de 0.2 UI/MI, en el rango de 17 meses se muestrearon 6 caninos de los cuales ninguno está protegido contra el virus de la rabia con un 0% el título promedio de este rango de edad es de 0 UI/MI, en el rango de 18 meses se muestrearon 5 caninos de los cuales ninguno está protegido contra el virus de la rabia con un 0% el título promedio de este rango de edad es de 0 UI/MI.

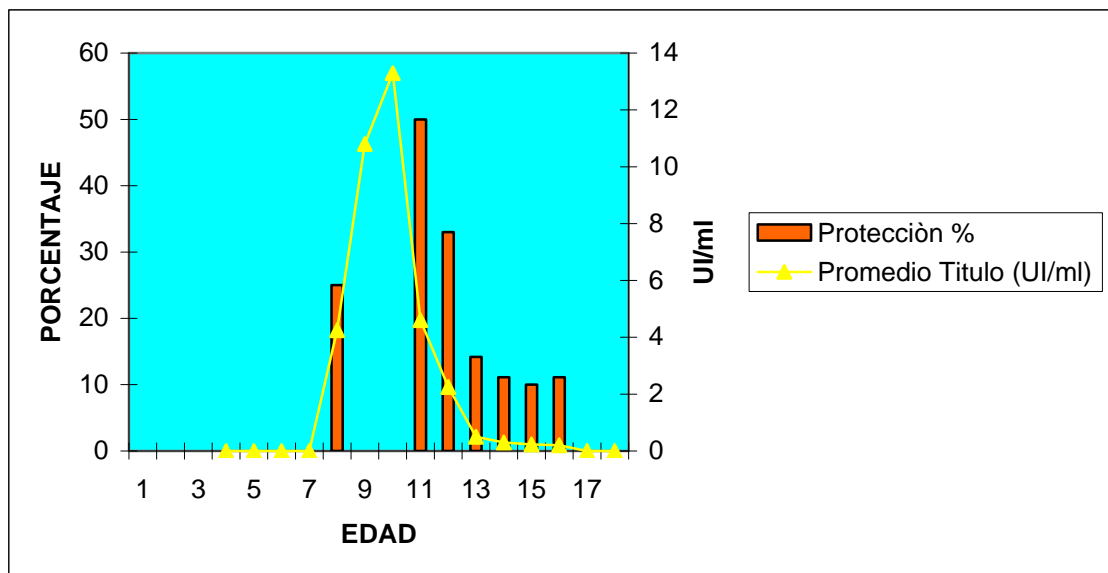
Tabla 1. Porcentaje de caninos protegidos y promedio del título de anticuerpos anti-rábiticos neutralizantes según intervalos de edad.

Edad	Número de animales	% Protección	Título promedio UI/ml
4	3	0	0
5	3	0	0
6	3	0	0
7	3	0	0
8	4	25	4.25
9	1	100	10.8
10	1	100	13.3
11	2	50	4.6
12	6	33.3	2.25
13	7	14.2	0.5
14	9	11.1	0.3
15	10	10	0.23
16	9	11.1	0.2
17	6	0	0
18	5	0	0

El título parte de 0.0 UI/ml para aquellos con edades entre 4 a 7 meses hasta llegar a 13.3 UI/ml para los que tienen 9 meses de edad y luego caen hasta 0.0 UI/ml para los que tienen 17 a 18 meses. (Figura 4, línea amarilla).

El porcentaje de caninos protegidos contra la rabia se parte del 25% en los caninos de 8 meses de edad hasta el 50% en el grupo de los 11 meses de edad. A partir de los 11 meses de edad se observa una disminución notable en el promedio de título de anticuerpos (0.0 UI/ml), además se observa una disminución en el porcentaje de animales protegidos (0%).

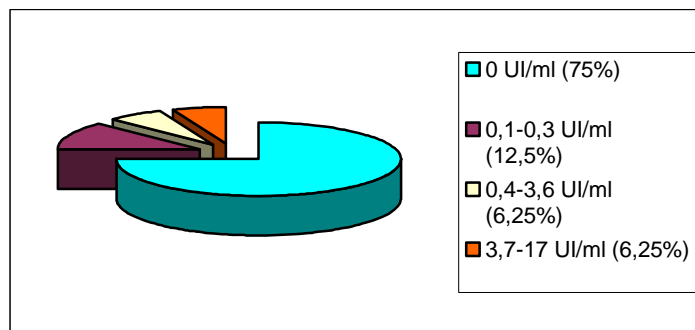
Figura 4. Porcentaje de caninos protegidos y promedio del título de anticuerpos antirrábicos neutralizantes según intervalos de edad.



4.9 DISTRIBUCIÓN POR CONCENTRACIONES DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS EN LOS CANINOS OBJETO DE ESTUDIO EN LOS CRIADEROS DE LA SABANA DE BOGOTA

Al hacer una distribución por concentraciones de anticuerpos anti-rábicos neutralizantes en el suero de los caninos de los criaderos de la sabana de Bogotá se observa que un 87.5% de los perros presentan títulos menores a 0.3 UI/ml de anticuerpos antirrábicos en el suero. En el 6.25% de los casos dicha concentración es igual o menor a 3.5 UI/ml. y en el 6.25 % esta es mayor a 3.5 UI/ml. El rango más frecuente es el de 0.0 – 0.3 UI/ml con un 87.5% de los casos y el rango menos frecuente es el de 2 – 17 UI/ml con el 12.5% de los casos.

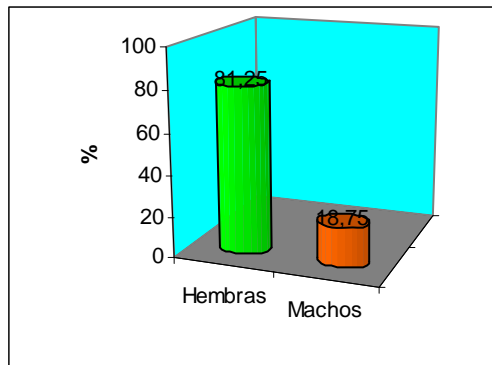
Figura 5. Distribución por concentraciones de anticuerpos anti-rábicos (UI/ml) en los caninos objeto de estudio en los criaderos de la sabana de Bogotá.



4.10 DISTRIBUCIÓN POR SEXO EN LOS CANINOS DE CRIADEROS EN LA SABANA DE BOGOTA

De la muestra total de 16 perros, 3 fueron machos lo que corresponde al 18.75% y 13 fueron hembras lo que corresponde al 81.25%.

Figura 6. Distribución de los caninos de la muestra de estudio por sexos en los criaderos de la sabana de Bogotá.

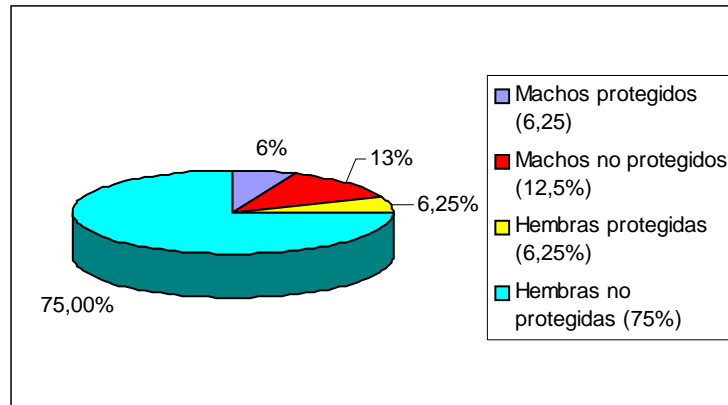


4.11 DISTRIBUCIÓN POR CONCENTRACIONES EN MACHOS Y HEMBRAS DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS EN LOS CANINOS DE CRIADEROS DE LA SABANA DE BOGOTÁ

No se encontró diferencia significativa entre hembras y machos en cuanto a las medias de la concentración de anticuerpos antirrábicos en suero. Este valor en machos fue de 1.0 UI/ml, mientras que en hembras fue de 1.0 UI/ml.

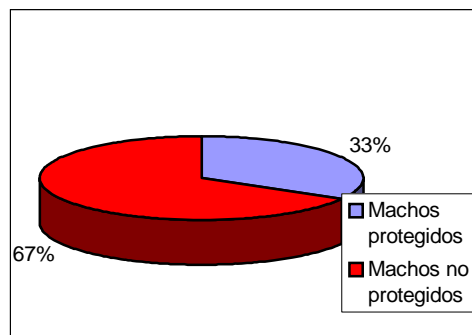
Al calcular el porcentaje de los caninos protegidos y no protegidos, distribuidos por sexo, encontramos los siguientes datos: los machos y hembras protegidos son el 12.5%, de este porcentaje el 6.25% son hembras y el 6.25% machos. En contraste los machos y hembras no protegidos son el 87.5% el 75% son hembras y el 12.5% son machos.

Figura 7: Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos distribuidos por sexos.



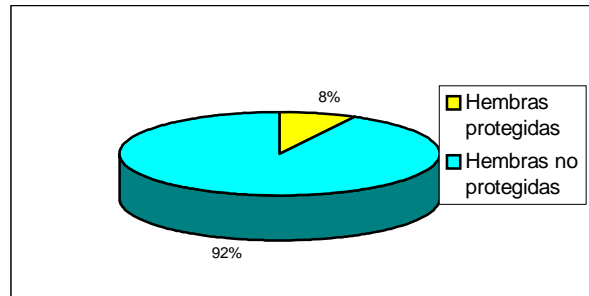
La cantidad de machos fue de 3 en la muestra de estudio correspondiente al 18.7% se encontró protegido 1 correspondiente al 33.3% de los machos, y se encontraron no protegidos 2 correspondiente al 66.7%.

Figura 8. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de los machos.



La cantidad de hembras en la muestra de estudio son 13 correspondiente al 81.2%, se encontró protegida 1 de ellas correspondiente al 8% de las hembras, y se encontraron no protegidas 12 correspondiente al 92%.

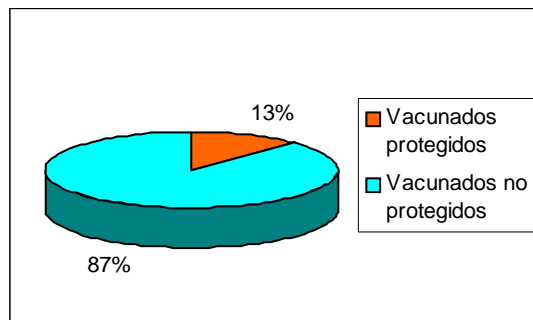
Figura 9. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de las hembras.



4.12 CANINOS REPORTADOS EN LAS ENCUESTAS COMO VACUNADOS CONTRA LA RABIA (PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS)

Los 16 caninos correspondientes al 100% de la muestra de estudio fueron reportados en las encuestas como vacunados. El procesamiento de estos sueros mostró que el 87.5% de estos no están protegidos, sin embargo solo el 12.5% está protegido contra la rabia.

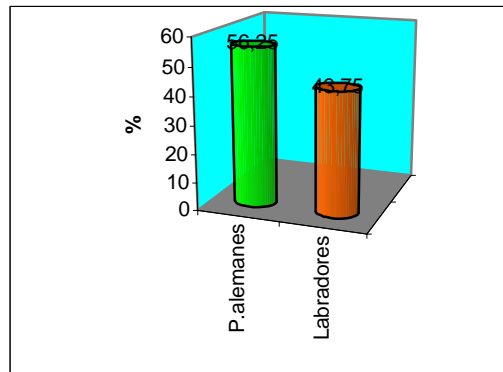
Figura 10. Porcentaje de caninos reportados como vacunados contra la rabia (protegidos y no protegidos)



4.13 DISTRIBUCION POR RAZA EN LOS CANINOS DE CRIADEROS EN LA SABANA DE BOGOTA

De la muestra total de 16 perros, 9 eran de la raza Pastor Alemán lo que corresponde al 56.25% y 7 fueron de la raza Labrador lo que corresponde al 43.75%.

Figura 11. Distribución de los caninos de la muestra de estudio por raza en los criaderos de la sabana de Bogotá.

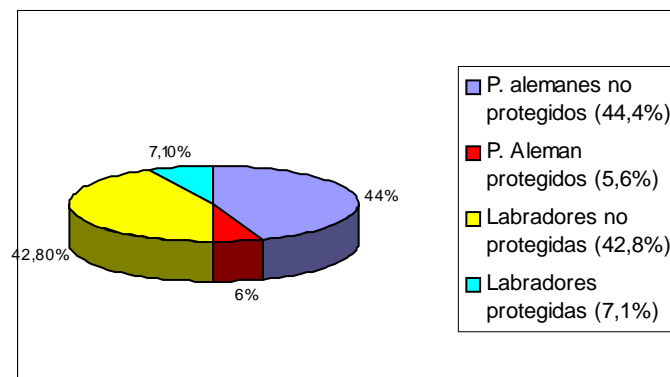


4.14 DISTRIBUCIÓN POR CONCENTRACIONES EN PASTORES ALEMANES Y LABRADORES DE ANTICUERPOS ANTI-RÁBICOS EN LOS CANINOS DE CRIADEROS DE LA SABANA DE BOGOTÁ

No se encontró diferencia significativa entre Pastores alemanes y Labradores en cuanto a numero de caninos protegidos ya que de los 9 pastores alemanes 1 se encuentra protegido y de los 7 labradores 1 se encuentra protegido. Las medias de la concentración de anticuerpos antirrábicos en suero para los Pastores alemanes fue de 0.35 UI/ml, mientras que en Labradores fue de 1.9 UI/ml.

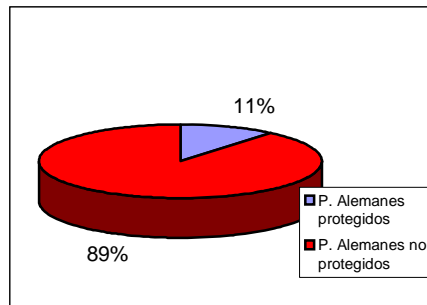
De los 7 caninos de la raza Labrador que corresponden al 43.7% de la muestra de estudio, 6 se encuentran desprotegidos serológicamente contra la rabia corresponde 42.8%, y 1 canino se encuentra protegido serológicamente contra la rabia con un porcentaje de 7.1%. De los 9 caninos de la raza Pastor Alemán que corresponden al 56.2% de la muestra de estudio, 8 se encuentran desprotegidos serológicamente contra la rabia corresponde 44.4%, y 1 canino se encuentra protegido serologicamente contra la rabia con un porcentaje de 5.6%.

Figura 12: Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos distribuidos por raza.



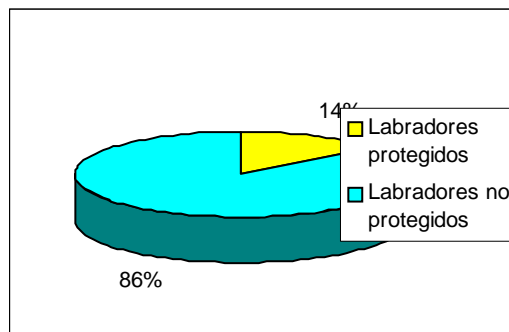
La cantidad de Pastores alemanes fue de 9 en la muestra de estudio correspondiente al 56.25% se encontró protegido 1 correspondiente al 11.2%, y se encontraron no protegidos 8 correspondiente al 88.8%.

Figura 13. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de los Pastores alemanes.



La cantidad de Labradores en la muestra de estudio son de 7 correspondiente al 43.7%, de la muestra de estudio, se encontró protegido 1 de ellos correspondiente al 14.2%, y se encontraron no protegidos 6 correspondiente al 85.6%.

Figura 14. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos en el grupo de las hembras.



5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Dentro de las actividades de vigilancia, prevención y control de zoonosis, los países de América (incluyendo por supuesto a Colombia), firmaron un acta de compromiso en reunión realizada en Guayaquil (Ecuador) en Noviembre de 1.983, en la cual se comprometieron a eliminar la rabia a nivel urbano, con meta a obtener esto en el año 2.000; lo anterior aún no se ha cumplido y se han realizado reuniones subsecuentes en las cuáles se ha enfatizado a los países a obtener este logro y orientar actividades para la prevención y control de otras zoonosis diferentes.

El perro y gato son sin lugar a dudas los animales reservorios de zoonosis a nivel urbano y son las especies preferidas por las personas que quieren tener una mascota, y su población en los últimos años ha venido en aumento, de ahí que a medida que va creciendo la población humana también tiende a incrementarse la población, tanto canina, como felina, con los consabidos riesgos de transmisión de zoonosis.

El problema de rabia en el país se concentra en pocos departamentos lo cual facilita el desarrollo de estrategias de control de los focos ante la presencia de casos, así como la intensificación de las acciones de vacunación rutinaria de caninos y felinos. Es necesario que todas las entidades territoriales del nivel departamental, evalúen la capacidad existente en sus municipios para el desarrollo de acciones de vacunación y de acuerdo con dicha evaluación, establezcan un plan de acción.

El presente proyecto de investigación tuvo como objetivo principal el evaluar la respuesta en cuanto a concentraciones de anticuerpos neutralizantes en suero de caninos de criaderos de la sabana de Bogotá a la vacunación anti-rábica, que de

manera anual es llevada a cabo por el personal encargado en cada criadero que no es precisamente un medico veterinario lo que indica el poco control que se tiene sobre el buen manejo de las vacunas en los criaderos.

El estudio se realizo en Bogotá debido a la posibilidad de que una enfermedad zoonótica como la rabia tenga una mayor presencia en la población canina de Bogotá la cual es alta, pues según el estudio de la población canina en la ciudad de Bogotá realizado para el año 2005, por la Secretaria Distrital de Salud y la Fundación Veterinaria para la Seguridad Social de la Mascota, la población canina ha aumentado significativamente, teniendo en cuenta que en Colombia existen 4.224.575 caninos (Secretaria Distrital de Salud, Censo canino 2005) que deben ser vacunados contra la rabia.

Se escogieron criaderos como muestra de estudio debido a que allí se podía hacer el seguimiento planteado por un periodo de 5 meses, y además los animales se encuentran en el mismo ambiente bajo las mismas condiciones; la muestra de estudio no fue la cantidad deseada debido a la poca colaboración por parte de los criaderos, por ello solo se pudo contar con la colaboración de 2 criaderos en los cuales solo se encontraban 16 caninos que clasificaban con las características deseadas para la realización del estudio, la mayoría de la muestra corresponde a hembras debido al propósito de los criaderos.

Las políticas para el control y eliminación de la rabia a nivel de criaderos son muy deficientes ya que no existe una entidad que este realizando vigilancia constantemente. Lo anterior sumado a los resultados analizados en este estudio donde el 87.5% de los 16 caninos no se encuentran protegidos contra el virus de la rabia a pesar de haber sido vacunados es preocupante. Las conclusiones y recomendaciones que se desprendan de esta investigación muy probablemente puedan ser extendidas al resto de criaderos de la sabana de Bogotá, para lograr el control de la transmisión de la rabia entre caninos.

La titulación de anticuerpos anti-rábicos en el suero de los caninos de la muestra de estudio demostró que el 12.5% presenta protección contra la rabia. Por el contrario el 87.5% no presentan protección (Figura 1), lo que indica que probablemente estos últimos no fueron vacunados de una manera adecuada teniendo en cuenta que las personas encargadas de la vacunación en los dos criaderos no son médicos veterinarios.

En síntesis, los datos anteriores indican que aunque las coberturas de vacunación anti-rábica reportadas para estos dos criaderos son del 100%, el porcentaje de caninos protegidos realmente es del 12.5% (Figura 15).

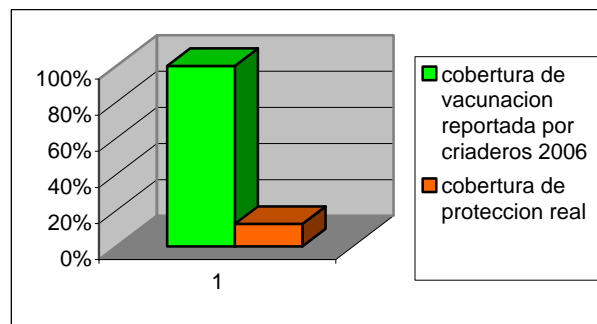


Figura 15: Porcentaje de la cobertura de vacunación reportada a nivel de criaderos 2006, Vs porcentaje de caninos protegidos realmente.

De acuerdo con lo anterior, el 100% de los caninos de 4 meses a 7 meses de edad no presentan concentraciones de anticuerpos protectivos contra infección por virus de la rabia, mostrando así que este grupo es el de mayor riesgo a presentar infección rábica. Los caninos mayores de 7 meses de edad a 18 meses, que no presentan concentraciones de anticuerpos protectivos contra la infección por virus de la rabia, conforman el 84.6. Mientras que los protegidos de este

mismo rango de edad conforman el 15.4% mostrando así que este grupo es el de mayor protección contra el virus de la rabia.

Se observó que el valor promedio de título de anticuerpos anti-rábicos se incrementa con la edad de los caninos, partiendo de 0.0 UI/ml para aquellos con edades entre 4 a 7 meses hasta llegar a 17 UI/ml para los que tienen edades entre 8 a 16 meses (Figura 4). Igualmente el porcentaje de caninos protegidos contra la rabia se incrementa gradualmente con la edad, partiendo desde el 0% en el grupo de los menores de 4 a 7 meses de edad hasta el 50% en el grupo de los caninos de 11 meses de edad (Figura 4). Sin embargo a partir de los 16 meses de edad se observa una disminución notable en el promedio de título de anticuerpos (0.0UI/ml), además se visualiza una disminución en el porcentaje de animales protegidos (0%) (Figura 4).

Los resultados obtenidos en el estudio indican que existe una falla en el momento de realizar la vacunación la cual puede deberse a:

- Ruptura de la cadena de frío en el momento de la vacunación
- Subdosificación
- Mal manejo de las vacunas en el momento de la aplicación
- Inmunosupresión de los individuos
- En las vacunas polivalentes el virus de la rabia muerto modificado es combinado con varios virus y por ello pueden ser más bajo el título de anticuerpos anti-rábicos por ELISA.

Es de esperar que al aplicar la vacuna a la edad de los 4 meses, pasado 1 mes de edad es decir a los 5 meses el título de anticuerpos neutralizantes del virus alcance un promedio de 8 UI/ml, mucho mayor que el umbral convencional de protección de 0.5 UI/ml el cual lo exige la organización mundial de la salud como mínimo nivel de protección. Posteriormente después de la vacunación los anticuerpos van disminuyendo gradualmente hasta caer por encima de 0.5 UI/ml y

mantenerse por un periodo de 3 años según el tipo de fabricante de la vacuna, sin embargo en Colombia se vacuna cada año por orden de la Secretaria de salud desde el año 2000 para prevenir las pérdidas humanas.

No obstante en el estudio realizado se observa que a pesar de haber sido vacunados a los 4 meses de edad no poseen títulos protectivos contra el virus de la rabia y que tan solo el 12.5% se encuentran protegidos lo que corresponde a 2 caninos de los 16 del estudio

Se esperaba que después de la primovacunación contra el virus de la rabia en animales jóvenes tengan una cantidad mayor a 0.5 UI/ml de anticuerpos. Los individuos crean anticuerpos contra el virus de la rabia entre más numero de dosis vacunales hallan recibido y por consiguiente sus anticuerpos estarán en mayor concentración al compararse con caninos más jóvenes. Por lo mismo es de esperar que si agrupamos los caninos por edades, encontraremos mayor número de protegidos en los grupos de edades entre 5 a 16 meses de edad según el esquema de vacunación actual de revacunar cada año.

El grupo de caninos de 17 a 18 meses de edad no poseen título de anticuerpos protectivos, lo que indica que para este rango de edad se debería haber puesto un refuerzo de vacuna antirrábica.

En un estudio realizado en el municipio de Ciénaga (Andrés Bello instituto nacional de salud 2004) 6 caninos (1 machos y 5 hembras) en total fueron reportados con edad de hasta 6 meses, únicamente uno de ellos fue reportado como vacunado. Todos los 6 poseían anticuerpos anti-rábiticos. Los 5 caninos no vacunados con rangos entre 0.1 hasta 1.8 UI/ml y el canino vacunado con un valor de 2.7 UI/ml, posiblemente los 5 caninos no vacunados adquirieron los anticuerpos anti-rábiticos de sus madres, es decir tendrían anticuerpos anti-rábiticos maternos. A partir de los 6 meses de edad existen caninos sin anticuerpos anti-

rábicos como en nuestro estudio, esto podría indicar que los anticuerpos maternos tendrían una duración mínima de hasta 6 meses en los cachorros, estos anticuerpos podrían haber interferido con la vacuna y por ello no mostrar títulos en el grupo de caninos de 4 a 7 meses de edad.

De la muestra total el 18.7% fueron machos y 81.2% hembras. Así, se observa un mayor número de hembras debido a que el propósito de los criaderos es la reproducción (figura 6).

No se encontró diferencia significativa entre hembras y machos en cuanto a la concentración promedio de anticuerpos antirrábicos en suero. Este valor en machos fue de 1.0 UI/ml, mientras que en hembras fue de 1.0 UI/ml, al calcular el porcentaje de los caninos protegidos y no protegidos en cada sexo tampoco se encontraron diferencias significativas. Los resultados muestran que el número total de caninos protegidos contra el virus de la rabia es de 12.5%, de este porcentaje el 6.25% son machos y el 6.25% son hembras (Figura 7).

De los 16 caninos de la muestra 9 pertenecen a la raza Pastor Alemán correspondiente al 56.2% de estos solo 1 se encuentra protegido contra el virus de la rabia lo que corresponde al 5.6%, Y 7 son de la raza Labrador correspondiente al 43.7%; de estos solo 1 se encuentra protegido contra el virus de la rabia correspondiente al 7.1%, de lo anterior podemos concluir que en cuanto a protección no se encontró diferencia significativa entre las dos razas mencionadas anteriormente. Las medias de la concentración de anticuerpos antirrábicos en suero para los Pastores alemanes fue de 0.35 UI/ml, mientras que en Labradores fue de 1.9 UI/ml. Esta diferencia se debe a que el único canino de la raza labrador protegido poseía títulos altos lo cual elevó el promedio de los demás.

6. CONCLUSIONES

Gracias a este trabajo de investigación se logró Cuantificar los niveles de anticuerpos anti-rábicos protectivos en una muestra de caninos de 2 criaderos de la sabana de Bogotá, así, los resultados de este estudio estarían indicando que el porcentaje de caninos protegidos es de 12.5% para los 2 criaderos del estudio, lo que es una cifra preocupante ya que esta indicando una falla en la vacunación en los mismos.

El grupo de caninos desprotegidos serológicamente contra la rabia corresponde al 87.5% de los caninos. Siendo este el grupo de caninos susceptible a infección rábica, constituyéndose en posible reservorio para los virus de la rabia.

La distribución de machos fue 18.7% y de hembras de 81.3%, respectivamente indica que hay una diferencia significativa en el numero de estos como lo expuse anteriormente por el propósito de los criaderos. De igual manera se encontró una similitud en cuanto a niveles de protección anti-rábica entre sexos.

Uno de los factores de riesgo encontrado en este estudio es el desplazamiento de 1 canino de otro país hacia Colombia el cual venia supuestamente vacunado pero no presento títulos esto indica el poco control que se lleva en Colombia para el ingreso de animales al país lo cual constituye una posible puerta de entrada para la infección.

Al distribuir la muestra de estudio por edades en intervalos de meses, se calculó en cada intervalo el porcentaje de los caninos que presentan protección contra la rabia y el promedio del título de anticuerpos antirrábicos neutralizantes, observándose que los caninos de 4 a 7 meses de edad no se encuentran protegidos contra el virus de la rabia, los caninos del grupo de los 8 meses de

edad han disminuido gradualmente la cantidad de anticuerpos anti-rábicos hasta los 16 meses de edad, en donde aun se encuentran protegidos contra el virus de la rabia, mientras los caninos del grupo de 17 a 18 meses no presentan protección contra el virus de la rabia.

7. RECOMENDACIONES

- Para asegurar una cobertura vacunal adecuada contra el virus de la rabia en caninos a nivel de criaderos, es necesario que la vacunación sea realizada por un profesional capacitado para esta labor para así corregir las posibles fallas en el recurso humano asignado.
- Se debe revisar la legislación en la materia, se debe actualizar, tratar de establecer un sistema de registro (al mediano plazo) de mascotas y reforzar la obligatoriedad de la vacunación.
- Se debería contar con unas guías técnicas para criaderos donde se incluya el manejo de biológicos y red de frío, requisitos para ingreso y movilización de mascotas y ventas, e incluir un reporte mensual de vacunación respaldado por un medico veterinario para así poder llevar un sistema de información y vigilancia para criaderos.
- Es necesario que los animales vacunados contra Rabia, se identifiquen en una forma visible y se hagan estudios para determinar niveles de inmunidad en la población vacunada; al igual que se deben realizar encuestas periódicas para establecer niveles de inmunidad en las poblaciones caninas
- Se debe cuantificar a través de un estudio el conocimiento, actitudes y comportamiento de la comunidad con relación a Rabia y lo relacionado con manejo de mascotas. Una vez realizado lo anterior se deben planificar actividades de carácter educativo público, familiar e individual, que lleven a modificar conceptos y condiciones con relación a esta temática

Por lo comentado anteriormente, se haría necesario abrir un espacio de reflexión, investigación y análisis sobre esta y otras zoonosis, que permita adaptar y adoptar respuestas de control.

Por todo lo anteriormente expuesto, la demora en la obtención de la información y la implementación de medidas estrictas de control y prevención por parte de las autoridades comprometidas en el manejo de la Salud Pública y el control de los riesgos ambientales, será incalculable en términos de morbilidad y mortalidad.

“Un control efectivo de muchas zoonosis humanas requiere primero el control en animales, para lo cual se requiere de grupos capacitados en el reconocimiento de estas patologías, proveyendo mecanismos de alerta tempranas y dando tiempo a las autoridades de tomar las medidas necesarias y así reducir los costos del cuidado de la salud en una comunidad”.

BIBLIOGRAFIA

ATANASIU P., SAVY V., GIBERT C. (1978). Rapid immunoenzymatic technique for titration of rabies antibodies IgG and IgM results. *Med. Microbiol. Immunol.* 166: 201-208.

ATANASIU P., PERRIN P., DELAGNEAU J.F. (1980). Use of an enzyme immunoassay with protein A for rabies antigen and antibody determination. *Develop. Biol. Standard* 46: 207-215.

BIDERFIELD P., GHETIE V., SJOQUIST J. (1975). Demonstration and assaying of IgG antibodies in tissues and on cells by labelled staphylococcal protein A. *J. Immunol. Meth.* 6: 249-259.

CLEAVELAND S., BARRAT J., BARRAT M.J., SELVE M., KAARE M., ESTERHUYSEN J. (1999). A rabies serosurvey of domestic dogs in rural Tanzania: results of a rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) and a liquid-phase blocking ELISA used in parallel. *Epidemiol Infect* 123(1): 157-164.

CLIQUET F., SAGNE L., SCHEREFFER J.L., AUBERT M.F. (2000). ELISA test for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in the fields. *Vaccine* 18(28): 3272-3279.

DE OSORIO A MRAD, RONSENKRANZ A. Guia para el Uso de Animales de Laboratorio I parte. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 1990.

DE OSORIO A MRAD, RONSENKRANZ A. Utilización de Animales de Laboratorio en la Experimentación Biológica. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 2000.

ESTERHUYSEN J.J., PREHAUD C., THOMSON G.R. (1995). A liquid-phase blocking ELISA for the detection of antibodies against rabies virus. *J. Virol. Methods* 51(1): 31-42.

ENGVALL E., & PERLMANN P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8: 871-874.

FORSGREN A., & SJOQUIST J. (1966). "Protein A" from *S. Aureus*. I. Pseudo-immune reaction with human gamma globulin. *J. Immunol.* 97: 822-827.

HUGHES GJ., PÁEZ A., BÓSHELL J., RUPPRECHT C.E. (2004). A phylogenetic reconstruction of the epidemiological history of canine rabies virus variants in Colombia. *Infection Genetics and Evolution.* 4; 45-51.

MEBATSION T., SILLERO-ZUBIRI C., GOTTELLI D., COX J.H. (1992). Detection of rabies antibody by ELISA and RFFIT in unvaccinated dogs and in the endangered Simien jackal (*Canis simensis*) of Ethiopia. *Zentralbl Veterinarmed (B)* 39(3): 233-235.

MESLIN F.X., FISHBEIN D.B., MATTER H.C. (1994). Rationale and prospects for rabies elimination in developing countries, p. 1-26. In C.E. Rupprecht, B. Dietzschold and H. Koprowski (ed.) *Lyssaviruses*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

MINISTERIO DE SALUD, INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. (1995). *Rabia*. Serie de notas e informes técnicos. Quinta Edición; No. 4.

MORENO JA., RODRÍGUEZ JM., VEGA R., FERNÁNDEZ M J. Niveles de Anticuerpos contra el virus de la rabia en caninos de Ciudad Bolívar, 1997-1998. *Boletín Epidemiológico Distrital* 1999. V 4:10 p 7-9.

PÁEZ A., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2002). Estandarización de la obtención de amplificadores del genoma del virus de la rabia para su uso en estudios de epidemiología molecular. *Biomédica* 22 (1); 71-76.

PÁEZ A., NÚÑEZ C., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2003a). Molecular epidemiology of rabies epizootics in Colombia: evidence for human and dog rabies associated with bats. *Journal of General Virology*. 84: www.sgm.ac.uk/JGVDirect/18899/18899ft.pdf

PÁEZ A., NÚÑEZ C., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2003b). Epidemiología molecular de epizootias de rabia en Colombia 1994-2002. Evidencia de rabia humana y canina asociada a quirópteros. *Biomédica* 23 (1); 19-30.

PÁEZ A., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2005a). Molecular epidemiology of rabies in northern Colombia 1994-2003: evidence for human and fox rabies associated with dogs. *Epidemiology and Infection* 133 (3); 529-536.

PÁEZ A., GÓMEZ J., FERNÁNDEZ J., MÉNDEZ F., FRANCO O. (2005b). Cuantificación de los niveles de anticuerpos anti-rábiticos protectivos en caninos de los municipios de Pivijay y Ciénaga, Departamento de Magdalena- Colombia 2004. *Rev. Invest. Univ. La Salle* Vol 5.

PERRIN P., VERSMISSE P., DELAGNEAU J.F., LUCAS G., ROLLIN P.E., SUREAU P. (1986). The influence of the type of immunosorbent on rabies antibody EIA: advantages of purified glycoprotein over whole virus. *J. Biol. Standard* 14: 95-102.

PIZA A.S., SANTOS J.L., CHAVES L.B., ZANETTI C.R. (1999). An ELISA suitable for the detection of rabies virus antibodies in serum samples from human vaccinated with either cell culture vaccine or suckling mouse brain vaccines. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 41(1): 39-43.

REPÚBLICA DE COLOMBIA, Ley 84 del 27 de diciembre de 1989.

RICO A, DÍAZ A, RICO E. (2001). Informe de la rabia urbana en Colombia, 1996-2001. Programa de Zoonosis. Ministerio de Salud de la República de Colombia.

RUSSELL, W.M.S. AND BURCH, R.L. The principles of human experimental technique. Methuen, London 1959.

RUSSOW L. BIOETHICS, Animal Research, and Ethical Theory. ILAR JOURNAL, 1999. vol 40, No 1.

SALLUM P.C. ALMEIDA M.F., MASSAD E. (2000). Rabies seroprevalence of street dogs from Sao Paulo City, Brazil. *Prev Vet Med* 44(3-4): 131-139.

STRADY A., LANG J., LIENARD M., BLONDEAU C., JAUSSAUD R., PLOTKIN S.A. (1998). Antibody persistence following preexposure regimens of cell-culture rabies vaccines: 10 year follow-up and proposal for a booster policy. *J Infect Dis* 177(5): 1290-1295.

WOSU L.O., ANYANWU H.N. (1990). Seroepidemiological survey of rabies virus antibodies in non-vaccinated dogs in Nsukka Environs, Nigeria. *J. Commun Dis* 22(2): 124-128.

WUNNER W.H., LARSON J. K., DIETZSCHOLD B., SMITH C.L. (1988). The molecular biology of rabies virus. *Rev. Infect. Dis.* 10; 771-84.

ANEXO.

INFORMACION GENERAL DEL CANINO
UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

FORMATO DE ENCUESTA No_____

INFORMACION GENERAL

FECHA_____

PROPIETARIO_____

NOMBRE DELCRIADERO_____

DATOS DEL CANINO

NOMBRE _____

RAZA_____

SEXO_____

EDAD_____

INFORMACIÓN ESPECÍFICA

FECHA DE LA PRIMOVACUNACIÓN ANTI-RABICA_____

MARCA DE LA VACUNA APLICADA_____

EXAMEN CLINICO

ESTADO GENERAL BUENO_____MALO_____

OBSERVACIONES_____

RESULTADOS

TITULO ANTICUERPOS ANTI-RABICOS POR ELISA UI/ml _____

ANEXO.

PRODUCTOS GENERADOS

Relacionados con la generación de conocimiento y/o nuevos desarrollos tecnológicos.

- Se adaptó la técnica de medición de anticuerpos anti-rábiticos neutralizantes por ELISA para determinar en caninos el periodo de protección serológica inducida por la primovacunación contra la rabia.
- Se observó en los caninos de los dos criaderos el periodo de protección serológica inducida por primovacunación contra la rabia.
- Los resultados obtenidos de la ejecución del proyecto se divulgarán a los criaderos que participaron en el proyecto y se realizó un artículo científico que será enviado para publicación en revista colombiana indexada.

Conducentes al fortalecimiento de la capacidad científica institucional y/o nacional.

- Con el desarrollo del presente proyecto de investigación se fortaleció el Grupo de Investigación en Enfermedades Infecto-contagiosas de la Universidad de La Salle, registrado en Colciencias.
- Se fortaleció la capacidad de investigación en la Universidad de la Salle al desarrollarse proyectos con investigación para generar conocimiento de frontera y publicarse los resultados en su Revista de Investigaciones.

Dirigidos a la apropiación social del conocimiento.

- Los resultados del proyecto se presentarán a las autoridades en zoonosis del Ministerio de la Protección Social.
- Los resultados del proyecto se presentaran en la Universidad de La Salle y en dos congresos nacionales, como el Congreso de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, Encuentro Científico del Instituto Nacional de Salud, Congreso Nacional de la Asociación Colombiana de Infectología, Congreso de Salud Pública de la Universidad Nacional de Colombia y la Convención Científica Nacional.

ARTICULO

DETERMINACIÓN DE LA DURACIÓN DEL PERIODO DE PROTECCIÓN SEROLÓGICA CONTRA LA RABIA EN CANINOS DE CRIADEROS EN LA SABANA DE BOGOTÁ

ADRIANA PAOLA GARZÓN CALDERÓN.¹

RESUMEN

En Colombia el esquema de vacunación anti-rábica en caninos corresponde a una primera dosis a los tres a cuatro meses de edad y un refuerzo cada año. Sin embargo se carece de estudios que determinen si realmente es necesario utilizar este intervalo de tiempo. Por lo anterior es una prioridad en el campo de la salud pública en Colombia la medición del tiempo de protección que confiere la primera dosis y los refuerzos de vacuna anti-rábica en caninos con el fin de observar si los esquemas de vacunación son adecuados, y con ello poder optimizar al máximo los recursos destinados para vacuna anti-rábica canina.

La muestra de estudio corresponde a 16 caninos con edades de 4 a 18 meses, pertenecientes a dos criaderos ubicados en la sabana de Bogota, los caninos deben haber recibido únicamente la primera dosis de la vacuna anti-rábica. A los 16 caninos se les tomara una muestra de sangre cada mes durante 5 meses hasta completar un número total de 72 muestras a las cuales se les realizará una prueba de Inmunodiagnostico de anticuerpos anti-rabicos por ELISA; cuyo objetivo es detectar anticuerpos neutralizantes del virus rábico, en el suero o en el plasma de los animales (Engvall & Perlmann 1971, Atanasiu *et al* 1978, Atanasiu *et al* 1980).

Del análisis de la información obtenida se inferirá si el tiempo de duración de los anticuerpos es acorde con el esquema de vacunación actual, y con la información obtenida poder realizar las recomendaciones que correspondan.

Palabras Claves: Rabia, ELISA, Anticuerpos anti-rábicos.

¹ Médico Veterinario U.L.S., ginebra205@hotmail.com

ABSTRACT

In Colombia the anti-rabic vaccination scheme in canines corresponds to a first dose from three to four months of age and a reinforcement every year. However it lacks of studies that really measure the need of using this timing. Having said this, it is a priority for the Public Health field in Colombia to measure the time of protection granted by the first dose and the reinforcements of an anti-rabic vaccination in canines in order to observe whether those vaccination schemes are adequate and with this to optimize at most the resources addressed to canine anti-rabic vaccination.

The sample for study corresponds to 16 dogs with ages between 4 and 18 months, belonging to two breeders located in Bogota, the dogs are receive just the first dose of the vaccination. A blood sample was taken from the dogs each month during a 5-month period until completing a total figure of 72 samples which will be developed an immunodiagnostic of anti-rabic by ELISA; whose target is detecting neutralizing antibodies of the virus, in the serum or the plasma in animals (Engvall & Perlmann 191, Atanasiu et al 1978, Atanasiu et al 1980).

It will be defined whether the time of antibodies lasting goes with the current vaccination scheme from the analysis of the gathered information, so then carrying out the corresponding recommendations.

Key words: Rabies, ELISA, antirabics antibodies.

INTRODUCCIÓN

La rabia es una enfermedad de origen viral que afecta a los mamíferos y es transmitida al hombre por contacto a través de la saliva de animales infectados, este virus es usualmente introducido por mordedura, también a través de la piel y mucosas lesionadas como resultados de lameduras.; el virus de la rabia genera una encefalitis de carácter terminal, la cual es causada por un virus neurotrópico del género *Lyssavirus*, familia *Rhabdoviridae*, orden Mononegavirales (Meslin *et al* 1994).

En Colombia, existen muchos factores que pueden estar conduciendo a un cambio en la epidemiología de las enfermedades transmisibles. La disminución de ingresos de la población, una nutrición deficiente con el consiguiente compromiso inmunológico; los grandes desplazamientos poblacionales que llevan a hacinamiento en lugares donde los servicios básicos son inadecuados y la cultura frente a la tenencia de animales de compañía, amplían los factores de riesgo frente a este tipo de enfermedades, causando su persistencia, o bien su reemergencia, por lo que los patrones de enfermedad pueden estar cambiando. Esto sugiere que los programas de vigilancia, prevención y control deben adaptarse a estas nuevas condiciones, por lo que se requeriría de una sólida fundamentación en medidas básicas de detección y control.

El presente trabajo de investigación fue realizado a nivel de criaderos de la sabana de Bogotá, donde participaron 2 criaderos con 16 caninos en total los cuales tenían edades entre 4 a 18 meses y se encontraban primovacunados contra el virus de la rabia, estos caninos se les realizó un seguimiento durante un periodo de 5 meses mediante la toma de muestras de sangre mensual para evaluar el nivel de anticuerpos anti-rábicos seroprotectivos como respuesta a la primovacunación contra el virus de la rabia (Laboratorio de Rabia, Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C.2006).

Para tal propósito se realizó la toma de sangre de los caninos pertenecientes a la muestra de estudio, y los sueros se procesaron por medio de una prueba de ELISA, utilizando el Estuche PLATELIA[®].RABIA de BIO-RAD. Posteriormente los resultados obtenidos fueron analizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra de estudio: corresponde a caninos de dos criaderos ubicados en la sabana de Bogotá. Estos caninos se encuentran entre un rango de edad de 4 a 18 meses y han recibido únicamente la primera dosis de la vacuna anti-rábica polivalente a los cuatro meses de edad. A los caninos se les realizara un seguimiento mensual durante un periodo de 5 meses hasta completar un número de muestras de 72.

Toma y almacenamiento de las muestras. Se procedió a tomar una muestra de sangre a los caninos por venopunción en la vena radial del antebrazo, con Vacutainer. Donde se obtuvieron entre 5-10 ml de sangre la cual se almaceno en una nevera portátil de icopor refrigerada. Se separo el suero por centrifugación, se alicuotará, se rotulo y almaceno a - 70°C, hasta el momento de la medición de la concentración de anticuerpos anti-rábicos neutralizantes. Se obtuvieron un total de 72 tomas de sangre las cuales corresponden a los 16 caninos con los cuales se inicio el proyecto, a estos se les realizo un seguimiento mensual hasta completar las 5 tomas de sangre.

Toma de los datos del canino. Los datos de los caninos se tomaron mediante un formato de encuesta el cual pedía información como nombre, raza, edad, sexo, fecha de primovacunación y tipo de vacuna.

Titulación de anticuerpos antirrábicos neutralizantes en suero. A nivel de laboratorio se detectaron y cuantificaron los anticuerpos contra la rabia en los sueros de los caninos utilizando el estuche PLATELIA RABIA de BIO-RAD que constituye una técnica inmunoenzimática para la detección de los anticuerpos anti-glicoproteína del virus rábico, en el suero o en el plasma humano o de animales (Engvall & Perlmann 1971, Atanasiu *et al* 1978, Atanasiu *et al* 1980). La prueba se fundamenta en la utilización de una fase sólida preparada con la glicoproteína extraída de la membrana del virus inactivado y purificado (Perrin *et al* 1986), y de

un conjugado enzimático que corresponde a la proteína A de *Staphylococcus aureus* acoplado a la peroxidasa (Forsgren & Sjoquist 1966, Biderfield *et al* 1975). El ensayo en su última fase se procesó en un lector de ELISA a 492 nm. La comparación con el suero control con anticuerpos antirrábicos titulados en UI/ml permite obtener el título en los sueros problema.

Análisis de la información. La investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo basado en medidas de tendencia central.

RESULTADOS

Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos contra la rabia en los criaderos de sabana de Bogotá. La titulación de anticuerpos anti-rábiticos neutralizantes en el suero de los 16 caninos de la muestra de estudio demostró que un total de 2 caninos tuvo una concentración de 0.5 UI/ml o superior lo cual indica que se encuentran protegidos contra una infección con el virus de la rabia. El número de caninos protegidos constituye un 12.5% del total de caninos de la muestra de estudio. En contraste los 14 caninos restantes tuvieron una concentración menor de 0.5 UI/ml indicando que estos no presentan protección a infección rábitica. Este número constituye un 87.5 % del total de caninos de la muestra del estudio. (Figura 1).

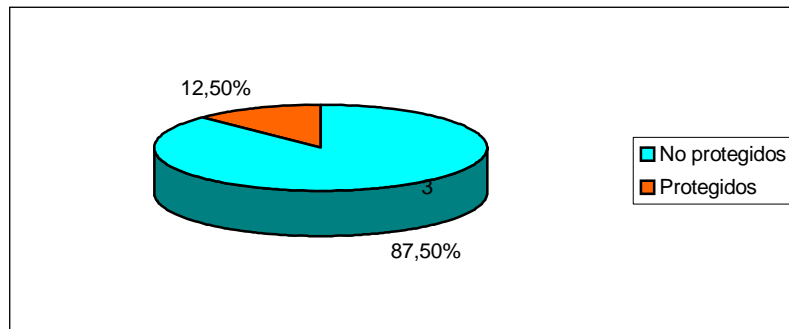


Figura 1. Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos a nivel de criaderos en la sabana de Bogotá.

Porcentaje de caninos protegidos y promedio del título de anticuerpos anti-rábiticos neutralizantes según intervalos de edad. Los caninos de la muestra de estudio se distribuyeron por edades de 4 a 18 meses, se calculó en cada intervalo el porcentaje de los caninos que presentan protección contra la rabia y el promedio del título de anticuerpos antirrábiticos neutralizantes.

El título parte de 0.0 UI/ml para aquellos con edades entre 4 a 7 meses hasta llegar a 13.3 UI/ml para los que tienen 9 meses de edad y luego caen hasta 0.0 UI/ml para los que tienen 17 a 18 meses. (Figura 2, línea amarilla).

El porcentaje de caninos protegidos contra la rabia se parte del 25% en los caninos de 8 meses de edad hasta el 50% en el grupo de los 11 meses de edad. A partir de los 11 meses de edad se observa una disminución notable en el

promedio de título de anticuerpos (0.0 UI/ml), además se observa una disminución en el porcentaje de animales protegidos (0%) (Figura 2).

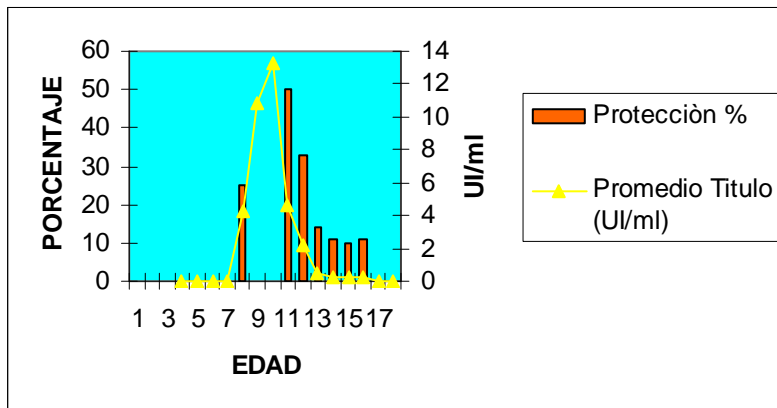


Figura 2. Porcentaje de caninos protegidos y promedio del título de anticuerpos antirrábicos neutralizantes según intervalos de edad.

Distribución por concentraciones de anticuerpos anti-rábicos en los caninos objeto de estudio en los criaderos de la sabana de bogota. Al hacer una distribución por concentraciones de anticuerpos anti-rábicos neutralizantes en el suero de los caninos de los criaderos de la sabana de Bogotá se observa que un 87.5% de los perros presentan títulos menores a 0.3 UI/ml de anticuerpos antirrábicos en el suero. En el 6.25% de los casos dicha concentración es igual o menor a 3.5 UI/ml. y en el 6.25 % esta es mayor a 3.5 UI/ml. El rango más frecuente es el de 0.0 – 0.3 UI/ml con un 87.5% de los casos y el rango menos frecuente es el de 2 – 17 UI/ml con el 12.5% de los casos (Figura 2).

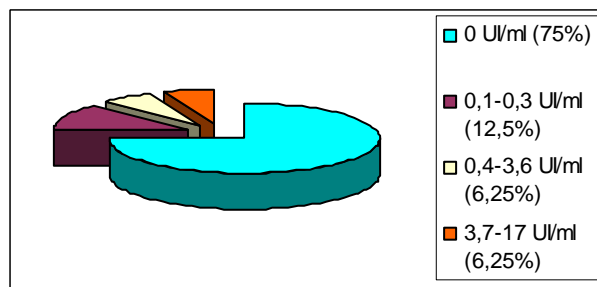


Figura 2. Distribución por concentraciones de anticuerpos anti-rábicos (UI/ml) en los caninos objeto de estudio en los criaderos de la sabana de Bogotá.

Distribución por sexo en los caninos de criaderos en la sabana de bogota. De la muestra total de 16 perros, 3 fueron machos lo que corresponde al 18.75% y 13 fueron hembras lo que corresponde al 81.25%.

Distribución por concentraciones en machos y hembras de anticuerpos anti-rábicos en los caninos de criaderos de la sabana de Bogotá. No se encontró diferencia significativa entre hembras y machos en cuanto a las medias de la concentración de anticuerpos antirrábicos en suero. Este valor en machos fue de 1.0 UI/ml, mientras que en hembras fue de 1.0 UI/ml.

Al calcular el porcentaje de los caninos protegidos y no protegidos, distribuidos por sexo, encontramos los siguientes datos: los machos y hembras protegidos son el 12.5% el 6.25% son hembras y el 6.25% machos. En contraste los machos y hembras no protegidos son el 87.5% el 75% son hembras y el 12.5% son machos (Figura 3).

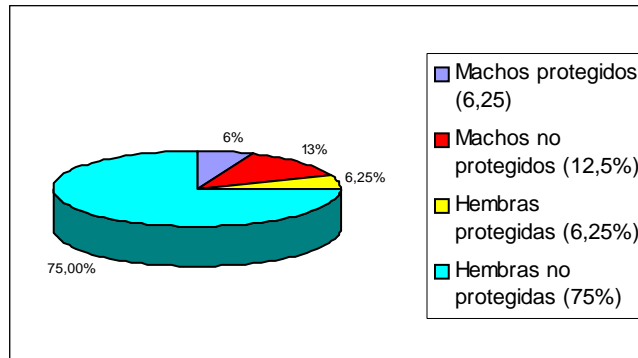


Figura 3: Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos distribuidos por sexos.

La cantidad de machos fue de 3 en la muestra de estudio correspondiente al 18.7% se encontró protegido 1 correspondiente al 33.3% de los machos, y se encontraron no protegidos 2 correspondiente al 66.7%. La cantidad de hembras en la muestra de estudio fue de 13 correspondiente al 81.2%, donde se encontró protegida 1 de ellas correspondiente al 8% de las hembras, y se encontraron no protegidas 12 correspondiente al 92%.

Caninos reportados en las encuestas como vacunados contra la rabia (protegidos y no protegidos). De los 16 caninos correspondientes al 100% de la muestra de estudio fueron reportados en las encuestas como vacunados. El procesamiento de estos sueros mostró que el 87.5% de estos no están protegidos, sin embargo solo el 12.5% está protegido contra la rabia (figura 4).

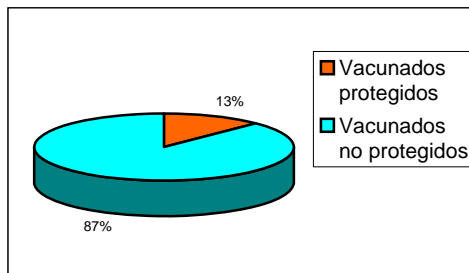


Figura 4. Porcentaje de caninos reportados como vacunados contra la rabia (protegidos y no protegidos)

Distribución por raza en los caninos de criaderos en la sabana de Bogota. De la muestra total de 16 perros, 9 eran de la raza Pastor Alemán lo que corresponde al 56.25% y 7 fueron de la raza Labrador lo que corresponde al 43.75%.

Distribución por concentraciones en pastores alemanes y labradores de anticuerpos anti-rábicos en los caninos de criaderos de la sabana de Bogotá.

No se encontró diferencia significativa entre Pastores alemanes y Labradores en cuanto a número de caninos protegidos ya que de los 9 pastores alemanes 1 se encuentra protegido y de los 7 labradores 1 se encuentra protegido. Las medias de la concentración de anticuerpos antirrábicos en suero para los Pastores alemanes fue de 0.35 UI/ml, mientras que en Labradores fue de 1.9 UI/ml.

De los 7 caninos de la raza Labrador que corresponden al 43.7% de la muestra de estudio, 6 se encuentran desprotegidos serológicamente contra la rabia corresponde 42.8%, y 1 canino se encuentra protegido serológicamente contra la rabia con un porcentaje de 7.1%.

De los 9 caninos de la raza Pastor Alemán que corresponden al 56.2% de la muestra de estudio, 8 se encuentran desprotegidos serológicamente contra la rabia corresponde 44.4%, y 1 canino se encuentra protegido serológicamente contra la rabia con un porcentaje de 5.6% (figura 5).

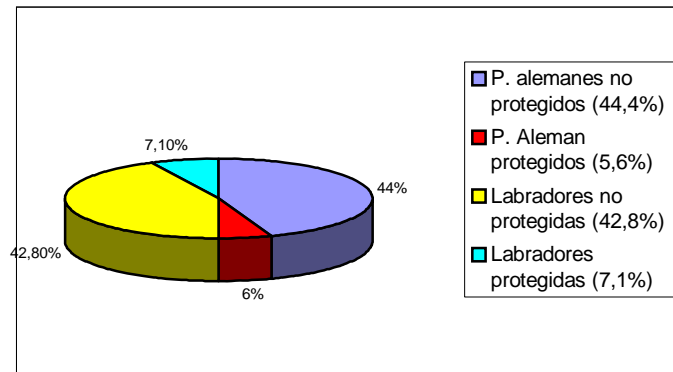


Figura 5: Porcentaje de caninos protegidos y no protegidos distribuidos por raza.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Dentro de las actividades de vigilancia, prevención y control de zoonosis, los países de América (incluyendo por supuesto a Colombia), firmaron un acta de compromiso en reunión realizada en Guayaquil (Ecuador) en Noviembre de 1.983, en la cual se comprometieron a eliminar la rabia a nivel urbano, con meta a obtener esto en el año 2.000; lo anterior aún no se ha cumplido y se han realizado reuniones subsecuentes en las cuáles se ha enfatizado a los países a obtener este logro y orientar actividades para la prevención y control de otras zoonosis diferentes.

El presente proyecto de investigación tuvo como objetivo principal el evaluar la respuesta en cuanto a concentraciones de anticuerpos neutralizantes en suero de caninos de criaderos de la sabana de Bogotá a la vacunación anti-rábica, que de manera anual es llevada a cabo por el personal encargado en cada criadero que no es precisamente un medico veterinario lo que indica el poco control que se tiene sobre el buen manejo de las vacunas en los criaderos.

El estudio se realizo en Bogotá debido a la posibilidad de que una enfermedad zoonótica como la rabia tenga una mayor presencia en la población canina de Bogotá la cual es alta, pues según el estudio de la población canina en la ciudad de Bogotá realizado para el año 2005, por la Secretaria Distrital de Salud y la Fundación Veterinaria para la Seguridad Social de la Mascota, la población canina ha aumentado significativamente, teniendo en cuenta que en Colombia existen 4.224.575 caninos (Secretaria Distrital de Salud, Censo canino 2005) que deben ser vacunados contra la rabia.

Se escogieron criaderos como muestra de estudio debido a que allí se podía hacer el seguimiento planteado por un periodo de 5 meses, y además los animales se encuentran en el mismo ambiente bajo las mismas condiciones; la muestra de estudio no fue la cantidad deseada debido a la poca colaboración por parte de los criaderos, por ello solo se pudo contar con la colaboración de 2 criaderos en los cuales solo se encontraban 16 caninos que clasificaban con las características deseadas para la realización del estudio, la mayoría de la muestra corresponde a hembras debido al propósito de los criaderos.

Las políticas para el control y eliminación de la rabia a nivel de criaderos son muy deficientes ya que no existe una entidad que este realizando vigilancia constantemente. Lo anterior sumado a los resultados analizados en este estudio donde el 87.5% de los 16 caninos no se encuentran protegidos contra el virus de la rabia a pesar de haber sido vacunados es preocupante.

La titulación de anticuerpos anti-rálicos en el suero de los caninos de la muestra de estudio demostró que el 12.5% presenta protección contra la rabia. Por el contrario el 87.5% no presentan protección (Figura 1), lo que indica que probablemente estos últimos no fueron vacunados de una manera adecuada teniendo en cuenta que las personas encargadas de la vacunación en los dos criaderos no son médicos veterinarios.

En síntesis, los datos anteriores indican que aunque las coberturas de vacunación anti-rábica reportadas para estos dos criaderos son del 100%, el porcentaje de caninos protegidos realmente es del 12.5%.

De acuerdo con lo anterior, el 100% de los caninos de 4 meses a 7 meses de edad no presentan concentraciones de anticuerpos protectivos contra infección por virus de la rabia, mostrando así que este grupo es el de mayor riesgo a presentar infección rábica. Los caninos mayores de 7 meses de edad a 18 meses, que no presentan concentraciones de anticuerpos protectivos contra la infección por virus de la rabia, conforman el 84.6. Mientras que los protegidos de este mismo rango de edad conforman el 15.4% mostrando así que este grupo es el de mayor protección contra el virus de la rabia.

Se observó que el valor promedio de título de anticuerpos anti-rábicos se incrementa con la edad de los caninos, partiendo de 0.0 UI/ml para aquellos con edades entre 4 a 7 meses hasta llegar a 17 UI/ml para los que tienen edades entre 8 a 16 meses. Igualmente el porcentaje de caninos protegidos contra la rabia se incrementa gradualmente con la edad, partiendo desde el 0% en el grupo de los menores de 4 a 7 meses de edad hasta el 50% en el grupo de los caninos de 11 meses de edad. Sin embargo a partir de los 16 meses de edad se observa una disminución notable en el promedio de título de anticuerpos (0.0UI/ml), además se visualiza una disminución en el porcentaje de animales protegidos (0%).

Los resultados obtenidos en el estudio indican que existe una falla en el momento de realizar la vacunación la cual puede deberse a:

- Ruptura de la cadena de frío en el momento de la vacunación
- Subdosificación
- Mal manejo de las vacunas en el momento de la aplicación
- Inmunosupresión de los individuos
- En las vacunas polivalentes el virus de la rabia muerto modificado es combinado con varios virus y por ello pueden ser más bajo el título de anticuerpos anti-rábicos por ELISA.

Es de esperar que al aplicar la vacuna a la edad de los 4 meses, pasado 1 mes de edad es decir a los 5 meses el título de anticuerpos neutralizantes del virus alcance un promedio de 8 UI/ml, mucho mayor que el umbral convencional de protección de 0.5 UI/ml el cual lo exige la organización mundial de la salud como mínimo nivel de protección. Posteriormente después de la vacunación los anticuerpos van disminuyendo gradualmente hasta caer por encima de 0.5 UI/ml y mantenerse por un periodo de 3 años según el tipo de fabricante de la vacuna, sin embargo en Colombia se vacuna cada año por orden de la Secretaria de salud desde el año 2000 para prevenir las pérdidas humanas.

Lo esperado después de la primovacunación contra el virus de la rabia en animales jóvenes es que tengan una cantidad mayor a 0.5 UI/ml de anticuerpos. Los individuos crean anticuerpos contra el virus de la rabia entre más número de dosis de vacuna hallan recibido y por consiguiente sus anticuerpos estarán en mayor concentración al compararse con caninos más jóvenes. Por lo mismo es de esperar que si agrupamos los caninos por edades, encontraremos mayor número de protegidos en los grupos de edades entre 5 a 16 meses de edad según el esquema de vacunación actual de revacunar cada año.

El grupo de caninos de 17 a 18 meses de edad no poseen título de anticuerpos protectivos, lo que indica que para este rango de edad se debería haber puesto un refuerzo de vacuna antirrábica.

De la muestra total el 18.7% fueron machos y 81.2% hembras. Así, se observa un mayor número de hembras debido a que el propósito de los criaderos es la reproducción (figura 8).

No se encontró diferencia significativa entre hembras y machos en cuanto a la concentración promedio de anticuerpos antirrábicos en suero. Este valor en machos fue de 1.0 UI/ml, mientras que en hembras fue de 1.0 UI/ml, al calcular el porcentaje de los caninos protegidos y no protegidos en cada sexo tampoco se encontraron diferencias significativas. Los resultados muestran que el 12.5% de los caninos se encuentran protegidos contra el virus de la rabia, de el anterior porcentaje el 6.25% son machos y el 6.25% son hembras.

De los 16 caninos de la muestra 9 pertenecen a la raza Pastor Alemán correspondiente al 56.2% de estos solo 1 se encuentra protegido contra el virus de la rabia lo que corresponde al 5.6%, Y 7 son de la raza Labrador correspondiente al 43.7%; de estos solo 1 se encuentra protegido contra el virus de la rabia correspondiente al 7.1%, de lo anterior podemos concluir que en cuanto a protección no se encontró diferencia significativa entre las dos razas mencionadas anteriormente. Las medias de la concentración de anticuerpos antirrábicos en suero para los Pastores alemanes fue de 0.35 UI/ml, mientras que en Labradores fue de 1.9 UI/ml. Esta diferencia se debe a que el único canino de la raza labrador protegido poseía títulos altos lo cual elevo el promedio de los demás.

“Un control efectivo de muchas zoonosis humanas requiere primero el control en animales, para lo cual se requiere de grupos capacitados en el reconocimiento de estas patologías, proveyendo mecanismos de alerta tempranas y dando tiempo a las autoridades de tomar las medidas necesarias y así reducir los costos del cuidado de la salud en una comunidad”.

AGRACEDIMIENTOS

A la Universidad de la Salle la cual a traves de sus departamentos de investigación y Ciencias Básica por la financiación de este proyecto de investigación. Al Doctor Andrés Páez Martínez Instituto nacional de salud, Doctor Javier Gómez Mesa.

BIBLIOGRAFÍA

- ATANASIU P., SAVY V., GIBERT C. (1978). Rapid immunoenzymatic technique for titration of rabies antibodies IgG and IgM results. Med. Microbiol. Immunol. 166: 201-208.
- ATANASIU P., PERRIN P., DELAGNEAU J.F. (1980). Use of an enzyme immunoassay with protein A for rabies antigen and antibody determination. Develop. Biol. Standard 46: 207-215.

- BIDERFIELD P., GHETIE V., SJOQUIST J. (1975). Demonstration and assaying of IgG antibodies in tissues and on cells by labelled staphylococcal protein A. *J. Immunol. Meth.* 6: 249-259.
- CLEAVELAND S., BARRAT J., BARRAT M.J., SELVE M., KAARE M., ESTERHUYSEN J. (1999). A rabies serosurvey of domestic dogs in rural Tanzania: results of a rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) and a liquid-phase blocking ELISA used in parallel. *Epidemiol Infect* 123(1): 157-164.
- CLIQUET F., SAGNE L., SCHEREFFER J.L., AUBERT M.F. (2000). ELISA test for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in the fields. *Vaccine* 18(28): 3272-3279.
- DE OSORIO A MRAD, RONSENKRANZ A. *Guía para el Uso de Animales de Laboratorio I parte.* Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 1990.
- DE OSORIO A MRAD, RONSENKRANZ A. *Utilización de Animales de Laboratorio en la Experimentación Biológica.* Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 2000.
- ESTERHUYSEN J.J., PREHAUD C., THOMSON G.R. (1995). A liquid-phase blocking ELISA for the detection of antibodies against rabies virus. *J. Virol. Methods* 51(1): 31-42.
- ENGVALL E., & PERLMANN P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8: 871-874.
- FORSGREN A., & SJOQUIST J. (1966). "Protein A" from *S. Aureus*. I. Pseudo-immune reaction with human gamma globulin. *J. Immunol.* 97: 822-827.
- HUGHES GJ., PÁEZ A., BÓSHHELL J., RUPPRECHT C.E. (2004). A phylogenetic reconstruction of the epidemiological history of canine rabies virus variants in Colombia. *Infection Genetics and Evolution.* 4; 45-51.

- MEBATSION T., SILLERO-ZUBIRI C., GOTTELLI D., COX J.H. (1992). Detection of rabies antibody by ELISA and RFFIT in unvaccinated dogs and in the endangered Simien jackal (*Canis simensis*) of Ethiopia. *Zentralbl Veterinarmed (B)* 39(3): 233-235.
- MESLIN F.X., FISHBEIN D.B., MATTER H.C. (1994). Rationale and prospects for rabies elimination in developing countries, p. 1-26. In C.E. Rupprecht, B. Dietzschold and H. Koprowski (ed.) *Lyssaviruses*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- MINISTERIO DE SALUD, INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. (1995). Rabia. Serie de notas e informes técnicos. Quinta Edición; No. 4.
- MORENO JA., RODRÍGUEZ JM., VEGA R., FERNÁNDEZ M J. Niveles de Anticuerpos contra el virus de la rabia en caninos de Ciudad Bolívar, 1997-1998. *Boletín Epidemiológico Distrital* 1999. V 4:10 p 7-9.
- PÁEZ A., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2002). Estandarización de la obtención de amplificadores del genoma del virus de la rabia para su uso en estudios de epidemiología molecular. *Biomédica* 22 (1); 71-76.
- PÁEZ A., NÚÑEZ C., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2003a). Molecular epidemiology of rabies epizootics in Colombia: evidence for human and dog rabies associated with bats. *Journal of General Virology*. 84: www.sgm.ac.uk/JGVDirect/18899/18899ft.pdf
- PÁEZ A., NÚÑEZ C., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2003b). Epidemiología molecular de epizootias de rabia en Colombia 1994-2002. Evidencia de rabia humana y canina asociada a quirópteros. *Biomédica* 23 (1); 19-30.
- PÁEZ A., GARCÍA C., BÓSHHELL J. (2005a). Molecular epidemiology of rabies in northern Colombia 1994-2003: evidence for human and fox rabies associated with dogs. *Epidemiology and Infection* 133 (3); 529-536.
- PÁEZ A., GÓMEZ J., FERNÁNDEZ J., MÉNDEZ F., FRANCO O. (2005b). Cuantificación de los niveles de anticuerpos anti-rábicos protectivos en caninos de los municipios de Pivijay y Ciénaga, Departamento de Magdalena- Colombia 2004. *Rev. Invest. Univ. La Salle* Vol 5.

- PERRIN P., VERSMISSE P., DELAGNEAU J.F., LUCAS G., ROLLIN P.E., SUREAU P. (1986). The influence of the type of immunosorbent on rabies antibody EIA: advantages of purified glycoprotein over whole virus. *J. Biol. Standard* 14: 95-102.
- PIZA A.S., SANTOS J.L., CHAVES L.B., ZANETTI C.R. (1999). An ELISA suitable for the detection of rabies virus antibodies in serum samples from human vaccinated with either cell culture vaccine or suckling mouse brain vaccines. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 41(1): 39-43.
- REPÚBLICA DE COLOMBIA, Ley 84 del 27 de diciembre de 1989.
- RICO A, DÍAZ A, RICO E. (2001). Informe de la rabia urbana en Colombia, 1996-2001. Programa de Zoonosis. Ministerio de Salud de la República de Colombia.
- RUSSELL, W.M.S. AND BURCH, R.L. The principles of human experimental technique. Mehuen, London 1959.
- RUSSOW L. BIOETHICS, Animal Research, and Ethical Theory. *ILAR JOURNAL*, 1999. vol 40, No 1.
- SALLUM P.C. ALMEIDA M.F., MASSAD E. (2000). Rabies seroprevalence of street dogs from Sao Paulo City, Brazil. *Prev Vet Med* 44(3-4): 131-139.
- STRADY A., LANG J., LIENARD M., BLONDEAU C., JAUSSAUD R., PLOTKIN S.A. (1998). Antibody persistence following preexposure regimens of cell-culture rabies vaccines: 10 year follow-up and proposal for a booster policy. *J Infect Dis* 177(5): 1290-1295.
- WOSU L.O., ANYANWU H.N. (1990). Seroepidemiological survey of rabies virus antibodies in non-vaccinated dogs in Nsukka Environs, Nigeria. *J. Commun Dis* 22(2): 124-128.
- WUNNER W.H., LARSON J. K., DIETZSCHOLD B., SMITH C.L. (1988). The molecular biology of rabies virus. *Rev. Infect. Dis.* 10; 771-84.