

Respuesta a la vacunación contra el virus de la rabia en perros inmunizados durante el acto quirúrgico o bajo efecto de drogas inmunomoduladoras

Response to vaccination against rabies in dogs immunized during surgery or under the effect of immunomodulatory drugs

Puentes R^{1*}, Calero D¹, Caresani B¹, Eliopulos N², Suárez G², Silva ACR³, Batista HBCR³

1- Área de Inmunología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica, Lasplaces 1620, Montevideo, Uruguay.

2- Área de Farmacología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica, Lasplaces 1620, Montevideo, Uruguay.

3 - Instituto Pasteur de Sao Paulo, Av. Paulista, 393, Cerqueira César, São Paulo, SP, 01311-000, Brasil.

* Autor para correspondencia: rpuentes@adinet.com.uy

Veterinaria (Montevideo) Volumen 52
Nº 203 (2016) 18-24

Recibido: 11/5/2016

Aceptado: 15/7/2016

Resumen

Según la OMS la forma más eficaz para reducir los casos de rabia anuales en humanos es a través de vacunaciones en perros y gatos, dado que el 90 % de los mismos son debido a mordeduras de estos animales, mayoritariamente caninos, infectados con el virus. En países de la región, donde se ha evaluado el nivel de protección de perros vacunados contra el virus de la rabia, se han encontrado variaciones importantes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta inmune humoral contra la rabia en perros con algún tipo de "modulación inmunológica" inducida experimentalmente. Para esto se inmunizaron cinco grupos de perros con vacunas polivalentes (Grupo 1), monovalentes (Grupo 2), inmunizados durante la castración quirúrgica (Grupo 3), que estaban en tratamiento con Triamcinolona acetónido (corticoides) durante la inmunización (Grupo 4) o que fueron vacunados simultáneamente con un inmunoestimulante comercial (Grupo 5). En términos generales los resultados obtenidos indican que en todos los casos, la mayoría de los animales pudieron superar el límite mínimo de anticuerpos para estar protegidos según la OMS (0.5UI/ml). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el uso de vacunas mono o polivalente, el uso de corticoides al momento de la inmunización y en la vacunación durante la castración quirúrgica.

Palabras clave:

rhabdoviridae, protección, caninos, vacunas.

Summary

According to WHO the most effective way to reduce the incidence of annual human rabies, is through vaccination of dogs and cats, since 90% of human cases are due to bites mainly from canines infected with the virus. The level of protection of dogs vaccinated against rabies varies significantly between countries of the region. The objective of this study was to evaluate the humoral immune response against rabies, in dogs with some kind of "immune modulation" experimentally induced. Dogs were immunized with polyvalent (Group 1), monovalent (Group 2) vaccines, and immunized during surgical castration (Group 3), dogs treated with triamcinolone acetone (steroids) during immunization (Group 4) or vaccinated simultaneously with a commercial immunostimulant (Group 5). The results indicate that in all cases, the majority of animals could exceed the minimum limit of antibodies to be protected according to the WHO (0.5UI / ml). However, significant differences ($p < 0.05$) in the use of mono- or polyvalent vaccines, the use of corticosteroids at the time of immunization and vaccination during surgical castration was found.

Keywords:

rhabdoviridae, protection, canines, vaccines.

Introducción

La rabia es una grave enfermedad zoonótica que causa encefalitis mortal. La mortalidad humana por rabia se estima en 55.000 muertes por año en todo el mundo, y más del 95% de las muertes humanas por rabia son causadas por perros rabiosos (Belotto y col., 2005).

En América Latina el número de casos de rabia en perros disminuyó significativamente, habiendo casos puntuales registrados en la actualidad; sin embargo y a pesar de eso, la rabia sigue siendo uno de los problemas más importantes de salud pública en este continente. Las regiones que tuvieron mejores logros en el control de la rabia canina, alcanzaron este status por la implementación de correctos y eficaces programas de vigilancia y control. Una de las principales medidas de control en este sentido, es la vacunación masiva y el control poblacional de perros. Aunque en muchas zonas urbanas se ha interrumpido la circulación del virus de la rabia en perros, las zonas endémicas persisten en varios países debido a las deficiencias en la vacunación y las condiciones sociales y ambientales en que viven las personas (Meslin y col., 1994; Belotto y col., 2005).

Aunque la vacunación de perros es considerada como una parte importante de los programas de control de la rabia en muchos países en desarrollo, existen algunas controversias en cuanto a la calidad de la respuesta inmune inducida por algunas marcas de vacunas y la duración de la misma en los animales vacunados. En un trabajo previo realizado en Uruguay, se determinó que apenas un 36% de perros con historia de vacunación reciente, tenían niveles de protección contra el virus de la rabia (Moreno y col., 2012). En este sentido, y con el propósito de buscar alternativas para mejorar la protección inmunológica de la población canina, se evaluó en el presente trabajo la viabilidad de vacunar caninos durante la cirugía realizada en las campañas de castración masiva. Partiendo de la base que la cirugía genera estrés para los animales (Nakama y col., 1990), es necesario comprobar si ese estrés es suficientemente alto como para disminuir la calidad de la respuesta inmune en los animales vacunados durante la anestesia posquirúrgica. Además, se evaluó como responden los animales según la formulación de la vacuna (monovalente vs polivalente) y si los animales responden diferente cuando la vacuna es administrada previo o junto con inmunomoduladores comerciales (depresores o estimulantes).

Materiales y métodos

Selección de los animales

Se utilizaron un total de 33 caninos cruzas, clínicamente sanos, ambos sexos, de entre 1 y 6 años de edad, desparasitados 15 días previos al experimento, sin antecedentes de vacunación contra el virus de la rabia y seronegativos al inicio del experimento por la técnica de *Rapid fluorescent focus inhibition test* (RFFIT).

El protocolo de experimentación animal fue aprobado por la Facultad de Veterinaria – UdelaR – Uruguay, en diciembre de 2013 (Exp. N°: 111130-002157-13).

Vacunas y drogas utilizadas

Para este experimento se utilizaron tres vacunas de marcas diferentes:

Vacuna A - monovalente conteniendo únicamente el virus de la rabia inactivado (cepa *Pasteur* originalmente aislada en el año 1882).

Vacuna B* - monovalente conteniendo únicamente el virus de la rabia inactivado (cepa *Pasteur* originalmente aislada en el año 1882).

Vacuna C* - polivalente conteniendo cepas atenuadas de Parvovirus canino, Distemper canino, Adenovirus canino y Parainfluenza y la cepa inactivada de Coronavirus canino.

*Las vacunas B y C pertenecían a una misma marca comercial y están indicadas por el fabricante para ser utilizada por separado (vacuna B) o juntas con la fracción polivalente (vacuna B y C). En este caso, se utilizó la vacuna B y C inyectadas en distintos sitios, pero al mismo tiempo en el animal, utilizando la dosis recomendada por el fabricante y se denominó a ese grupo como “vacuna polivalente”.

Tratamiento con droga inmunosupresora – marca comercial basada en Triamcinolona acetónico a razón de 0,22mg/kg vía subcutánea. La misma se administró 7 días previos a cada inmunización (día -7 y día 21).

Tratamiento inmunoestimulante – extractos de células inactivadas de *Propionibacterium granulosum* y Lipopolisacárido de *E. coli*, y se administró la cantidad recomendada por el fabricante, en una única dosis en el mismo día que se realizó la primovacuna (día 0).

Variables estudiadas y grupos de ensayos

- Grupo 1 - siete (7) caninos inmunizados con vacuna polivalente (B y C simultáneamente).

- Grupo 2 - siete (7) caninos inmunizados con vacuna monovalente (A).

- Grupo 3 - siete (7) caninos inmunizados durante la castración quirúrgica con vacuna polivalente (B y C simultáneamente).

- Grupo 4 - seis (6) caninos inmunizados con la vacuna monovalente (A) y sometido a un tratamiento con droga inmunosupresora de acuerdo a lo descrito anteriormente.

- Grupo 5 - seis (6) caninos inmunizados con la vacuna monovalente (A) y sometido a un tratamiento inmunoestimulante de acuerdo a lo descrito anteriormente.

Plan de inmunización y toma de muestras

Los animales del grupo 1, 2, 4 y 5 recibieron dos dosis de vacuna por la vía subcutánea en un intervalo de 30 días:

Día 0 – Primovacuna

Día 30 – Revacunación

El grupo 3 recibió una única dosis de la vacuna B y C al momento de la cirugía (vacunación intra operatoria)

Se colectaron muestras de sangre sin anticoagulante de la vena cefálica con mariposas 21G de todos los animales los días 0, 30, 60 y 120. Las mismas fueron colocadas en tubos secos, centrifugadas durante 10 minutos a 1600 g v luego almacenadas a – 20°C hasta su procesamiento.

Detección y cuantificación de anticuerpos anti-rábicos

Para este experimento se utilizó la técnica de *Rapid fluorescent focus inhibition test* (RFFIT) para la identificación de anticuerpos anti-rábicos, realizada en el Instituto Pasteur de Sao Paulo (Laboratorio de Referencia en la región), siguiendo las recomendaciones de la OIE (OIE, 2012). Breve-

Cuadro 1. Títulos de anticuerpos y nivel de protección contra la rabia en caninos inmunizados bajo distintas situaciones de inmunomodulación

Día	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		Grupo 5			
	n° anima-les	% protec-ción	Título anti-cep-os (media)	SEM	n° anima-les	% protec-ción	Título anti-cep-os (media)	SEM	n° anima-les	% protec-ción	Título anti-cep-os (media)	SEM
0	0/7	0	0.02	0.005	0/7	0	0.03	0.005	0/7	0	0.09	0.04
30	7/7	100	1.75	0.18	7/7	100	15.97	5.36	6/7	85	0.83	0.17
60	6/7	85	2.95	0.83	7/7	100	45.45	8.63	0/7	0	0.04*	0.002
120	3/7	42	0.55	0.23	7/7	100	3.89	0.99	0/7	-	-	-

Grupo 1 – Animales inmunizados con vacuna polivalente, Grupo 2 – Animales inmunizados con vacuna monovalente durante la cirugía, Grupo 4 – Animales inmunizados con vacuna monovalente durante el tratamiento con corticoides, Grupo 5 – Animales inmunizados con vacuna monovalente e inmunostimulados al momento de la primovacuna. * El día 60 del grupo 3 no es comparable con el mismo día del grupo 1 teniendo en cuenta que este último recibió una segunda dosis de vacunación al día 30.

mente, se incubaron diluciones seriadas en base 5 (1:5 hasta 1:15.625) de los sueros problemas con 100 FFD₅₀ (dosis formadora de focos en 50% de cultivos) de virus rábico durante 90 minutos a 37 °C con atmósfera controlada (5% CO₂) en placas de 96 pocillos. Posteriormente se sembraron 2,5 x 10⁴ células/pocillo de la línea BHK (“Baby Hamster Kidney”) y se incubaron en igual condiciones por 20hs. Luego se fijaron las células con acetona y se realizó la Inmunofluorescencia con anticuerpos anti-rabia conjugados a FITC (Isotiocianato de Fluoresceína). La reacción se visualizó en microscopio invertido de Fluorescencia a 200X y los resultados se expresaron en Unidades Internacionales o relativas a un antisuero estándar internacional.

Análisis estadístico de los datos

Los datos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar. Los datos son reportados mediante su media ± error estándar (SEM). Para determinar el nivel de protección (>0,5 UI/ml) y las diferencias entre títulos de anticuerpos entre grupos en cada día en particular, se utilizó el Test exacto de Fisher y el Test de Mann Whitney, respectivamente. El nivel de significancia en ambos test fue de un 95%.

Resultados

Referente a la comparación de la respuesta inmune humoral en perros inmunizados con vacunas monovalentes y polivalentes, si bien no se alcanzó a demostrar diferencias entre ambos grupos en superar el nivel mínimo de protección (>0,5 UI/ml), los títulos de anticuerpos del grupo 2 (vacuna monovalente) fueron significativamente superiores al grupo 1 (vacuna polivalente) los días 30, 60 y 120 (p<0,05) (Cuadro I, Fig. 1). Además, todos los animales del grupo 2 presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0,5 UI/ml hasta el día 120, mientras que apenas un animal del grupo 1 se mantuvo con ese nivel de protección al día 120.

En cuanto al efecto de la administración de corticoides previa inmunización monovalente contra la rabia (Grupo 4) y tal como se puede observar en la figura 2, los títulos de anticuerpos del grupo 2 (monovalente) fueron significativamente superiores al grupo 4 (con administración de corticoides) los días 30, 60 y 120.

Por otro lado, cuando se utilizó un inmunostimulante comercial que fue administrado junto con la vacuna monovalente contra la rabia, aunque se pudo observar que los títulos de anticuerpos del grupo 5 fueron superiores al del grupo 2 (vacuna monovalente sin inmunostimulación), estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig. 2).

Finalmente, se evaluó la respuesta a la vacunación contra rabia en perros sometidos (grupo 3) o no (grupo 1) a una intervención quirúrgica (esterilización) al momento de la inmunización con una única dosis de vacuna polivalente. Seis de siete animales respondieron, superando el límite de anticuerpos para estar protegido (Cuadro I).

De todos modos, los títulos de anticuerpos del grupo 1 (sin cirugía) fueron estadísticamente superiores al grupo sometido a cirugía al día 30 ($p < 0.05$) (Fig. 3).

Resumiendo, en lo que se refiere al nivel de protección alcanzado en los títulos de anticuerpos en los distintos grupos de ensayo, a pesar de que se evidenciaron diferencias significativas entre algunos grupos, el nivel de protección fue suficiente en la mayoría de los animales de todos los grupos

experimentales en el día 30 post vacunación. No se evidenciaron diferencias significativas en el nivel de protección entre los grupos comparables, según el tratamiento utilizado y el día de experimento. En el día 60, los grupos 1, 2, 4 y 5 (que habían recibido una segunda dosis de vacuna al día 30), el nivel de protección fue entre 85 y 100 % según el grupo experimental analizado. En el grupo 3, que solo había recibido una única dosis de vacuna al momento de la castración quirúrgica, el nivel de protección al día 30 fue 85% y al día 60 fue de 0% (Cuadro I).

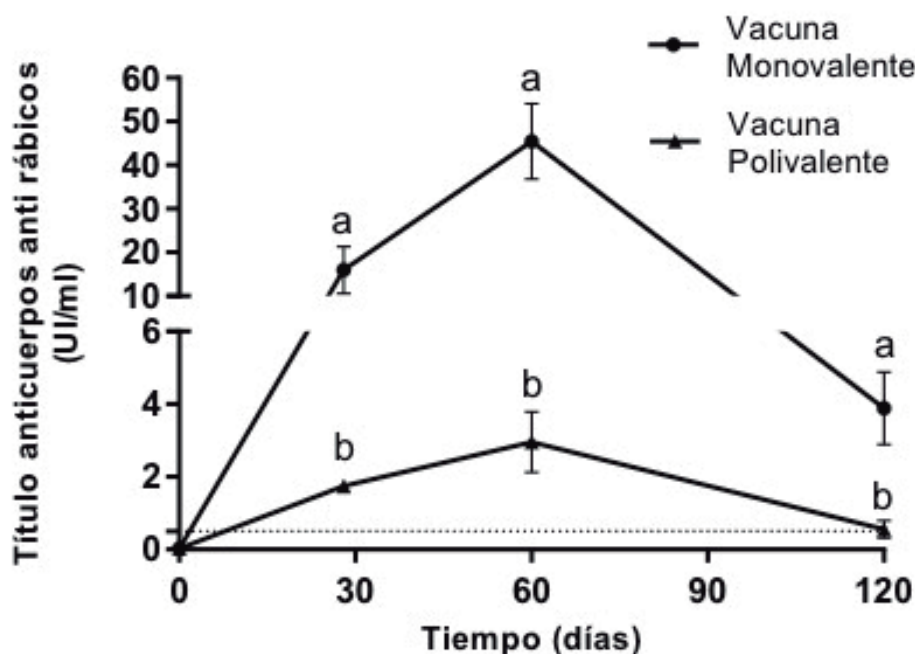


Fig 1. Título de anticuerpos anti-rábicos en caninos inmunizados con vacunas monovalente y polivalente. La línea punteada marca el nivel mínimo de protección establecido por la OMS (0.5UI/ml).

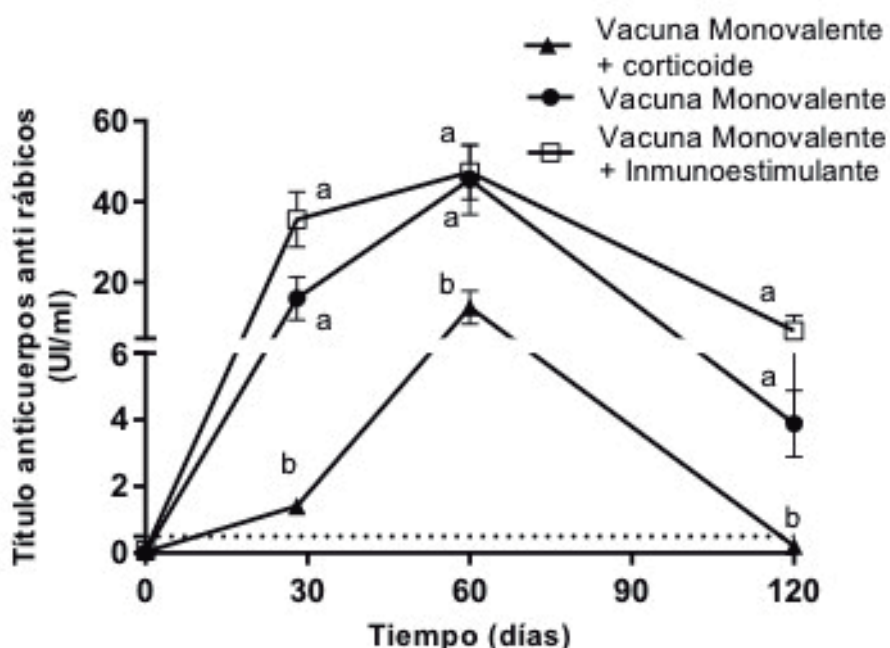


Fig 2. Efecto del tratamiento inmunosupresor o inmunoestimulante en la respuesta inmune humoral contra la rabia. La línea punteada marca el nivel mínimo de protección establecido por la OMS (0.5UI/ml).

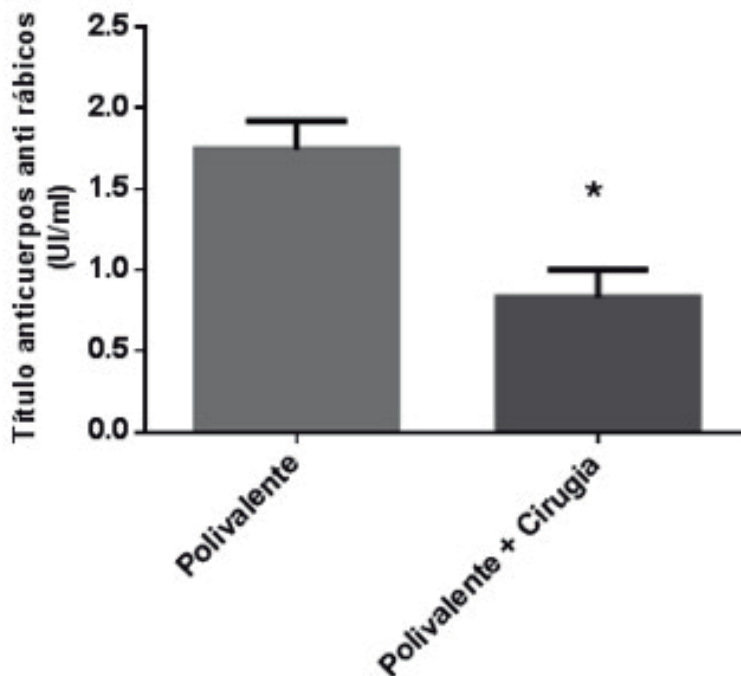


Fig 3. Títulos de anticuerpos contra la rabia al día 30 post vacunación en perros inmunizados durante la castración quirúrgica.

Discusión

Este trabajo tuvo como objetivos principales, abordar algunos aspectos importantes relacionados a la vacunación contra la rabia en la práctica veterinaria. Se evaluaron como incide la respuesta inmune contra esta enfermedad bajo distintas condiciones de inmunomodulación frente a 3 diferentes vacunas. Desde hace mucho tiempo se sabe que las respuestas inmunes en los animales pueden variar si se utilizan vacunas polivalentes con cepas de virus vivos atenuados (Strasser y col., 2003), si la administración de las mismas se hace concomitantemente con drogas inmunosupresoras (ej. corticoides) (Nara y col., 1979), inmunoestimulantes (Gallego-Olivella y col., 1997; Erazo y col., 2001) o si se aplican durante una cirugía con el consecuente estrés inmunológico que causan los procedimientos quirúrgicos (Angele y Faist, 2002; Reese y col., 2008).

Al comparar la respuesta a la inmunización de perros con vacuna monovalente vs vacuna polivalente, se pudo observar que al día 30, 60 y 120, 100% de los animales del grupo 2 (vacuna monovalente) estuvieron protegidos. Sin embargo, en el grupo 1 (vacuna polivalente) la protección fue de 100%, 85% y 42% respectivamente. A pesar de que el porcentaje de protección fue el mismo 30 días luego de la inmunización, los títulos de anticuerpos del grupo inmunizado con la vacuna monovalente fueron significativamente superior ($p < 0,05$). Las diferencias en los títulos de anticuerpos encontradas entre ambos grupos (monovalente vs polivalente), sobre todo en los días 30 y 60, podrían deberse a varias causas, siendo una de ellas la inmunosupresión que causan algunos virus incluidos en la vacuna polivalente como Distemper y Parvovirus canino. Se ha observado que estos virus, modulan la respuesta inmune del hospedador, pudiendo interferir en la eficacia de las vacunas y la protección inmunológica obtenida (Strasser y col., 2003). Por otro lado, no pudimos

determinar si las diferencias encontradas se deben a un problema en la vacuna (vacuna B) independientemente de la administración conjunta con la polivalente (vacuna C). En un futuro, se deberían realizar otros ensayos, donde se aplicara únicamente el componente rabia de la vacuna B, para comparar con los niveles obtenidos en este trabajo y evaluar si la administración de ambas vacunas genera un efecto negativo en la respuesta contra la rabia. Al margen de esto, y desde el punto de vista práctico, la aplicación de ambas vacunas (rabia y polivalente) al mismo tiempo, es utilizada a menudo en varios países, donde generalmente en la última dosis del plan de vacunación se incluye la vacuna de rabia al igual que en las revacunaciones anuales. Con los resultados del presente trabajo, se deja de manifiesto la posible interferencia que pudiera existir en la respuesta inmune contra la rabia, en planes de vacunación que se administran junto con vacunas polivalentes. Más ensayos son necesarios con un número mayor de animales, para corroborar estos resultados.

En Uruguay al igual que en varios países, se recomienda la revacunación anual de caninos contra el virus de la rabia. En este trabajo se siguieron los animales hasta los cuatro meses. En ese momento, menos de la mitad de los animales del grupo 1 (polivalente) y la totalidad de los animales del grupo 2 (monovalente), estaban protegidos. La duración y la permanencia de los niveles protectores luego de los cuatro meses (período que duró el experimento), deben ser evaluados y no pueden ser extrapolados a partir de los resultados obtenidos en este trabajo.

Por otro lado, el efecto de los corticoides sobre las funciones del sistema inmune, ha sido investigado en numerosos experimentos (Nara y col., 1979; Schwiebert y col., 1996). En este trabajo se analizó la utilización de dosis altas de triamcinolona acetónido a razón de 0.22mg/kg aplicado 7 días antes de cada inmunización. Este tipo de terapia se utiliza en medicina canina en los casos de cuadros alérgicos im-

portantes, donde se desea suprimir las funciones del sistema inmune para disminuir la sintomatología clínica. Por lo tanto, la vacunación de los animales que están siendo tratados con estas drogas, no está indicado. Sin embargo, algunos autores han demostrado que animales en tratamiento con altas dosis de Prednisolona son capaces de protegerse frente al desafío con Distemper canino, demostrando que no siempre los tratamientos con corticosteroides impiden una respuesta satisfactoria a la vacunación (Nara y col., 1979). En el presente trabajo, todos los animales superaron el nivel mínimo de protección al día 30 y 60 post vacunación, aunque las diferencias encontradas en la media del título de anticuerpos entre este grupo (tratado con triamcinolona) y el grupo no tratado, fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$). Desde el punto de vista de la protección contra la rabia, el efecto de los corticoides se observó más claramente en el día 120, cuando ya ningún animal tenía títulos mayores a 0.5UI/ml. Estos resultados sugieren que si deseamos vacunar contra la rabia animales que estén siendo tratados con triamcinolona, se debería hacer una tercera revacunación antes del día 120. El uso de inmunoestimulantes con el fin de mejorar la respuesta a la vacunación, no es una práctica habitual en medicina veterinaria. La activación de importantes componentes del sistema inmune luego de la inyección de LPS de *E. coli* + *Propionibacterium granulosum* (inmunoestimulante utilizado en este trabajo), ha sido observado anteriormente tanto a nivel de células T y B, como de citoquinas e inmunoglobulinas (Markowska-Daniel y col., 1993; Gallego-Olivella y col., 1997; Erazo y col., 2001). Con estos antecedentes, es de esperar que el uso de inmunoestimulantes pueda mejorar significativamente la respuesta inmune contra la rabia. En este trabajo si bien a los días 30 y 60 se observaron mayores títulos de anticuerpos en los animales inmunoestimulados con una única dosis al momento de la primovacuna, estas diferencias no fueron significativas, lo que pone en duda el real beneficio de este tratamiento para mejorar los títulos protectores contra la rabia en animales clínicamente sanos. Quizás la importancia de la inmunoestimulación puede ser en el caso de vacunas con baja inmunogenicidad o de animales inmunodeprimidos o inmunocomprometidos. En este caso la vacuna monovalente generó una respuesta muy buena en términos de títulos de anticuerpos anti-rábiticos, siendo quizás poco probable que esa respuesta aumentara significativamente por el uso de inmunoestimulantes. Se deberían profundizar estos resultados, con la aplicación de inmunoestimulantes utilizando vacunas polivalentes, donde se observa una respuesta inmune significativamente menor, causada quizás por la presencia de virus inmunosupresores como se mencionó anteriormente. En el día 120, si bien los animales que habían recibido el inmunoestimulante tenían una media mayor de anticuerpos ($7,88 \pm 3,90$ UI/ml) que el grupo control ($3,88 \pm 0,99$ UI/ml), esta diferencia no fue significativa ($p > 0,05$). Quizás la ventaja del grupo inmunoestimulado, pueda estar en una protección más duradera en el tiempo, lo que no fue evaluado en este trabajo.

En cuanto a la vacunación contra la rabia durante la cirugía, al día 30 post vacunación, 6 de 7 animales (85%) superaron el nivel de anticuerpos mínimo necesario para estar protegido (0,5UI/ml), con una media de $0,83 \pm 0,17$ UI/ml. Sin embargo, si se compara este valor con la media del título de anticuerpos de los animales que no habían sido sometidos al estrés quirúrgico pero sí fueron vacunados con la misma vacuna ($1,74 \pm 0,17$ UI/ml), este valor es significativamente

más bajo ($p < 0,05$). Estos resultados demuestran que, aunque en la literatura está demostrado que existe un compromiso inmunológico causado por el acto quirúrgico (Ayala y col., 1994; Angele y Faist, 2002), la gran mayoría de los animales pueden responder inmunológicamente contra la rabia al ser vacunado durante la cirugía. Sin embargo y para obtener una protección a largo plazo en este caso, se debería realizar una segunda dosis de vacunación, ya que el título protector descendió drásticamente al día 60 post inmunización. Si bien Miyamoto y col (1994), habían demostrado la eficacia de la vacunación en perros sometidos a cirugías, ellos evaluaron la respuesta contra Parvovirus y Distemper canino, y la vacunación se había realizado dentro de los 10 días previos hasta el tercer día posterior a la cirugía. Por otro lado, Reese y col. (2008) evaluaron la respuesta inmune a la vacunación contra distintos patógenos incluyendo la rabia, antes, durante y luego de la cirugía, pero su experimento se realizó en gatos, por lo que la respuesta podría no ser extrapolable a la especie canina.

La importancia central de los resultados obtenidos sobre vacunación contra rabia durante cirugías, radica en la posibilidad de utilizar el acto quirúrgico para realizar una primera dosis de vacunación contra la rabia en perros durante campañas de castración masiva. Teniendo en cuenta que para lograr una protección a largo plazo, se debería revacunar probablemente al menos una vez más a estos animales según los resultados obtenidos. Con esta estrategia, se podría lograr en un futuro aumentar la cobertura vaccinal de la población canina contra esta enfermedad, disminuyendo el riesgo de contagio para la salud pública a partir de perros infectados.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración de todos los colegas veterinarios que permitieron la realización de este trabajo, especialmente al Dr. Mario Quintero (“Veterinario en casa”) y a los laboratorios privados que aportaron las vacunas para este ensayo.

Este trabajo fue realizado en el marco del proyecto de Dedicación Total del Dr. Rodrigo Puentes financiada por la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) – Universidad de la Republica.

Bibliografía

1. Angele MK, Faist E. (2002). Clinical review: immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Crit Care* 6:298-305.
2. Ayala A, Lehman DL, Herdon CD, Chaudry IH. (1994). Mechanism of enhanced susceptibility to sepsis following hemorrhage: interleukin (IL)-10 suppression of T-cell response is mediated by eicosanoid induced IL-4 release. *Arch Surg* 129:1172-1178.
3. Belotto A, Leanes LF, Schneider MC, Tamayo H, Correa E. (2005). Overview of rabies in the Americas. *Virus Res* 111:5-12.
4. Erazo GP, Marca J, Navarrete E. (2001). Evaluación zootécnica y sanitaria de la administración del

-
- inmunoterápico Inmodulen® en madres gestantes y lechones neonatos. Resúmenes XXII Symposium ANAPORC, p.342-345, Santiago de Compostela. España.
5. Gallego-Olivella J, Ruiz-Martin JM, Faturdo-Torrus E. (1997). Study of the immunostimulating effect of IM-104 in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol* 19:331-333.
 6. Markowska-Daniel I, Pejsak Z, Szmigielski S, Jeljaszewicz J, Pulverer G. (1993). Prophylactic application of *Propionibacterium avidum* KP-40 in swine with acute experimental infections. I. Viral infections--Aujeszky's disease and classical swine fever. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 100:149-151.
 7. Meslin FX, Fishbein DB, Matter HC. (1994). Rationale and prospects for rabies elimination in developing countries. En: Rupprecht CE, Dietzschold B, Koprowski H, editors. *Lyssaviruses*. Berlin: Springer Verlag; 1-26.
 8. Miyamoto T, Taura Y, Une S, Yoshitake M, Nakama S, Watanabe S. (1994). Immunological responses after vaccination pre- and post-surgery in dogs. *J Vet Med Sci* 57:29-32.
 9. Moreno J, Burghi N, Piaggio J, Puentes R. (2012). Respuesta inmune de caninos vacunados contra el virus de la rabia. *Veterinaria (Montevideo)* 48:19-22.
 10. Nakama S, Tanaka M, Tanaka, T. (1990). Effect of halothane or pentobarbital anesthesia on blastogenesis of peripheral blood lymphocytes in dogs. *Jap J Vet Anesth Surg* 2:71-77.
 11. Nara PL, Krakowka S, Powers TE. (1979). Effects of prednisolone on the development of immune responses to canine distemper virus in beagle pups. *Am J Vet Res* 40:1742-1747.
 12. Organización Mundial de Sanidad Animal. (OIE) (2012). *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals*. Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2011, París, Francia, p: 1-26. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.13_RABIES.pdf Fecha de consulta: 05/Mayo/2016.
 13. Reese MJ, Patterson EV, Tucker SJ, Dubovi EJ, Davis RD, Crawford PC, Levy JK. (2008). Effects of anesthesia and surgery on serologic responses to vaccination in kittens. *JAVMA* 233:116-121.
 14. Schwiebert LM, Beck LA, Stellato C, Bickel CA, Bochner BS, Schleimer RP. (1996). Glucocorticosteroid inhibition of cytokine production: relevance to antiallergic actions. *J Allergy Clin Immunol* 97:143-152.
 15. Strasser A, May B, Teltscher A, Wistrela E, Niedermüller H. (2003). Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 94:113-121.
-