

Respuesta inmune de caninos vacunados contra el virus de la rabia



TÉCNICO

Canine immune response to rabies vaccination

Moreno, J.¹, Burghi, N.¹, Piaggio, J.², Puentes, R.^{1*}

RESUMEN

La Rabia es una enfermedad infecciosa viral que se caracteriza por cuadros de encefalitis conduciendo a la muerte de los animales afectados. La forma más eficaz para reducir las muertes anuales de casos de rabia en humanos es a través de vacunaciones en perros y gatos. En nuestro país la vacunación en caninos se realiza parcialmente, lo que pone en riesgo la protección de todos los animales susceptibles a la enfermedad, implicando un potencial riesgo para la Salud Pública. El objetivo de este trabajo fue determinar el título de anticuerpos contra la rabia en 140 caninos con historia de vacunación y comparar con los títulos protectores establecidos por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). De las 140 muestras analizadas, 50 (36%, IC 95%: 28 - 44%) presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0.5 UI/mL, indicando un nivel de protección aceptable según la OIE. El restante (64%) de los animales con historia de vacunación, no tienen títulos con niveles de protección (mayores o igual a 0.5 UI/mL). Los resultados del presente trabajo, dejan de manifiesto el posible riesgo de infección que tiene la población canina estudiada. Medidas sanitarias más rigurosas deberían ser consideradas para lograr un estado inmunitario aceptable en esta población.

Palabras clave: Rabia canina, protección, respuesta inmune, Uruguay

SUMMARY

Rabies is a viral infectious disease characterized by encephalitis, this leads the affected animals to death. The vaccination of dogs and cats is the most effective measure to reduce the number of human deaths due to this disease. In our country dog's vaccination is done partially, this jeopardizes the protection of all susceptible animals implying a potential risk to public health. The aims of this study were to determine the antibodies titles against rabies in 140 dogs with vaccination history and compare them to the protective levels established by the World Organization for Animal Health (OIE). Out of the 140 samples tested, 50 (36%, 95% CI: 28 - 44%) had antibody titers above 0.5 IU/mL, indicating an acceptable level of protection according to the OIE. The remaining samples (64%) did not show titles with protection levels (greater than or equal to 0.5 IU/mL). The results presented here, reveals the possible risk of infection in the studied dog population. More rigorous sanitary measures should be considered to achieve an acceptable immune status in this population.

Key words: Canine rabies, protection, immune response, Uruguay

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 estas muertes son causadas por perros rabiosos (Knobel y col., 2005). En América Latina la rabia sigue siendo uno de los problemas más importantes de salud pública. Aunque en muchas zonas urbanas se ha interrumpido la circulación del virus en perros con medidas de control apropiadas, incluida la vacunación masiva, 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 (Belotto y col., 2005).

El último caso de rabia humana en Uruguay fue en 1966 y el último caso de rabia canina ocurrió en 1983 en Rocha (OPS, 2005). En el año 2007 se diagnosticó por primera vez rabia pareasiente en herbívoros en el departamento de Rivera, afectando en esa oportunidad a bovinos y equinos de la zona y la fuente de infección yacía en los murciélagos (Vitale y col., 2008).

En el departamento de Rivera, en el año 2008 se hizo el primer diagnóstico de Rabia en murciélagos no hematófagos. Por su comportamiento migratorio y sinantrópico, es probable que éstos lleguen a estar en contacto con perros (González y col., 2009).

En nuestro país, la vacunación en caninos se realiza parcialmente, ya que no es obligatoria, lo que pone en riesgo la protección de todos los animales susceptibles a la enfermedad, implicando un potencial riesgo para la Salud Pública. Por otro lado, no existen controles oficiales sobre el estado inmunitario de la población canina vacunada, de forma que no se conoce si los animales vacunados, están protegidos de una posible exposición al virus o si son necesarias revacunaciones para garantizar esa protección. Al ser esta una enfermedad reemergente en Uruguay, el riesgo de contagio en los caninos es posible.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el título de anticuerpos contra la rabia en 140 caninos con historia de vacunación y comparar con los títulos protectores establecidos por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

¹Área de Inmunología, Depto. de Ciencias Microbiológicas, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Lasplacas 1550. CP11600. Tel. +(598) 2 6281303 – Montevideo – Uruguay. *Autor para correspondencia: rpuentes@adinet.com.uy

²Área de Bioestadística – Facultad de Veterinaria – UdelaR.

Recibido: 19/11/11 Aprobado: 15/5/12

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras y datos recabados

Se colectaron muestras de sangre sin anticoagulante de 140 caninos hembras y machos con vacunación completa¹ contra la rabia, de distintas razas y edades, procedente del centro hospital veterinario (Facultad de Veterinaria, Universidad de la República) y clínicas veterinarias particulares del Departamento de Montevideo e interior.

Se procedió a la extracción de sangre a través de la vena cefálica. Luego de obtenida la muestra de sangre, se colectaron en tubos para la posterior extracción del suero mediante centrifugación a 3000 rpm. Se rotularon adecuadamente y se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento. Paralelo a esto se realizó una ficha para cada animal documentando la edad (menores de 1 año, mayores de 1 año y menores de 3 años, mayores de 3 años y menores de 6 años y mayores de 6 años), raza, sexo, localidad, marca de la vacuna empleada y tiempo transcurrido desde la vacunación hasta la extracción, categorizándolo en menor a 6 meses de vacunados, entre 6 meses y 1 año, y mayor a 1 año de vacunados.

Detección de anticuerpos antirrábicos

Las muestras fueron procesadas utilizando un kit de ELISA comercial avalado por la OIE, para la detección y valoración *in vitro* de anticuerpos anti-rabia (*Platelia Rabies II Kit ad usum veterinarium Ref.: 355-0180, Marnes-la Coquette, France*) (Feysaguet y col., 2005). Se realizó la técnica, siguiendo las instrucciones del fabricante (Bio Rad, France). Los títulos de suero se expresaron en unidades equivalentes por mL (UE/mL), unidad equivalente a las unidades internacionales (UI/ mL) definidas por seroneutralización *in vitro*. Los sueros con títulos mayores o iguales a 0.5 UE/ mL fueron considerados protegidos, siguiendo las recomendaciones de la OIE. Además se utilizó el criterio de clasificación recomendado por el kit sobre nivel de protección, donde los títulos mayores a 4 UI/ mL se consideran con un nivel elevado, aquellos que están entre 0.5 y 4 UI/ mL son considerados con nivel suficiente, los que son menores a 0.5 pero mayores a 0.125 UI/ mL con nivel insuficiente y en los menores a 0.125 UI/ mL se consideran sin detección de anticuerpos.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis descriptivo de las variables estudiadas a través porcentajes, cuadros y figuras. Las proporciones fueron estimadas con un nivel de confianza del 95 % utilizando la Distribución Binomial. Para hallar la proporción verdadera de los animales protegidos se utilizó la fórmula $P_v = \frac{PA + (E-1)}{E + (S-1)}$, donde PA es la proporción aparente, E y S son la especificidad y la sensibilidad de la prueba respectivamente (Rogan y Gladen, 1978).

Para comparar los niveles de protección entre categorías para las variables estudiadas (sexo, edad y tiempo de vacunación previo a la extracción de sangre), se utilizó la prueba de χ^2 con un nivel de significación de 5% (se usó el α con corrección de

Bonferroni para las comparaciones entre las categorías). El análisis estadístico fue realizado con el software STATA v 11.2 (StataCorp, 2009).

RESULTADOS

De las 140 muestras analizadas, 50 (36%, IC 95%: 28 - 44%) presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0.5 UI/ mL, indicando un nivel de protección aceptable según la OIE (Figura 1). El restante (64%) de los animales con historia de vacunación, no tienen títulos con niveles de protección (mayores o igual a 0.5 UI/ mL). La proporción verdadera de protección (corregida según especificidad y sensibilidad de la prueba de ELISA) fue de 39,6%.

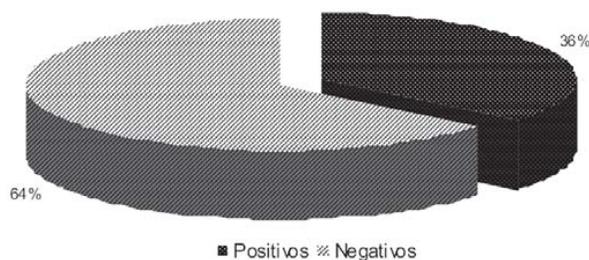


Figura 1. Porcentaje de protección contra la rabia en la población canina estudiada.

Del total de muestras analizadas, sólo 12 (9%) presentaron un título de anticuerpos elevado (>4 UI/ mL), 38 (27%) tuvieron un nivel suficiente de protección (0.5-4 UI/ mL), 35 muestras (25%) tuvieron un nivel insuficiente de anticuerpos para generar protección (0.125-0.5 UI/ mL) y en 55 (39%) no se detectaron niveles de anticuerpos antirrábicos (<0.125 UI/ mL).

De los 140 sueros analizados, 82 fueron sueros de caninos hembras, lo que corresponde al 59% y 58 fueron sueros de caninos machos, que representan el 41% restante. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la protección según el género del animal ($\chi^2=0,27$ $p=0,33$). El 31% y el 37% de machos y hembras respectivamente, estaban protegidos.

Con respecto a la edad de los animales, en los 20 que eran menores a 1 año de edad, sólo 7 (35%, IC 95%: 15 - 59%) estaban protegidos a diferencia de los 13 restantes que no lo estaban. De los 41 animales que tenían entre 1 y 3 años, 12 (29,3%, IC 95%: 16 - 45%) estaban protegidos. De la categoría que se encontraba entre los 3 y 6 años de edad, 13 (41,9%, IC 95%: 24 - 61%) de los 31 presentaban un nivel de anticuerpos protectores suficiente. Finalmente, de los 48 perros mayores a 6 años, 18 estaban protegidos (37,5%, IC 95%: 24 - 53%) (Figura 2).

En cuanto a los animales protegidos según tiempo de vacunación previo a la extracción, se pudo observar que de los 66 caninos menores de 6 meses de vacunación, 35 (53%, IC 95%: 40 - 65%) presentaron protección y los restantes 30 (47%)

¹Se corroboró la vacunación previa de los animales, mediante el certificado sanitario con la firma del profesional actuante.

El término vacunación completa significa que los animales habían sido inmunizados siguiendo las recomendaciones del fabricante de las vacunas para lograr una protección adecuada contra la Rabia.

Respuesta inmune de caninos vacunados contra el virus de la rabia

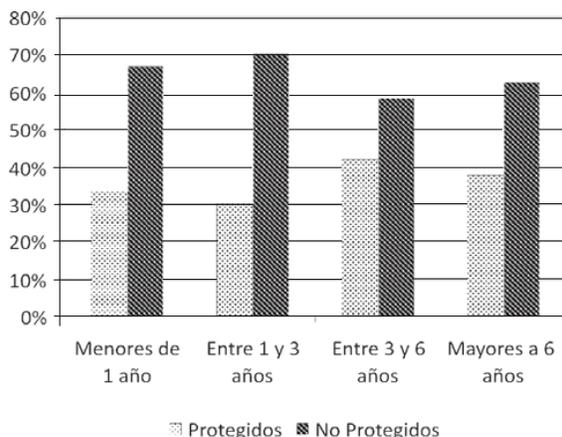


Figura 2. Porcentaje de animales protegidos y no protegidos según la edad del animal.

estaban desprotegidos. De los 40 caninos que tenían entre 6 meses y 1 año de vacunados, solo 9 (22,5%, IC 95%: 11 – 38%) presentaban un nivel de anticuerpos suficiente como para brindar protección. De los 34 perros comprendidos en la categoría que tenía más de 1 año de vacunados, solo 6 (17,7%, IC 95%: 6 – 35%) presentaban protección (Figura 3).

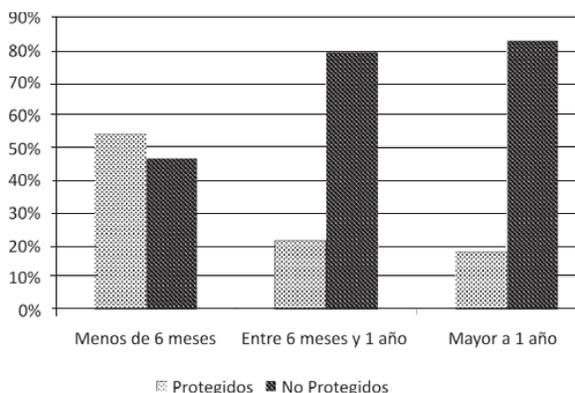


Figura 3. Porcentaje de protección de los animales según tiempo de vacunación previo.

Si a su vez se analiza por nivel de protección según tiempo de vacunación previo, se puede observar que de los 65 caninos vacunados hacía menos de 6 meses, sólo 10 (15.4%) presentaron un nivel elevado de protección, 25 (38.5%) un nivel suficiente, 21 (32.3%) un nivel insuficiente y 9 (13.8%) no presentaron anticuerpos antirrábicos. De los 41 caninos vacunados hacía más de 6 meses pero menos de 1 año, sólo 2 (4.9%) presentaron un nivel elevado de anticuerpos, 7 (17.1%) un nivel suficiente, 11 (26.8%) nivel insuficiente y en 21 (51.2%) muestras no se detectaron anticuerpos. De los 32 caninos vacunados hacía más de un año, ninguno presentó un nivel de anticuerpos

elevado, 6 (17.6%) un nivel suficiente, 3 (7.3%) un nivel insuficiente de protección y en 25 muestras (61.0%) no se detectaron anticuerpos (Figura 4).

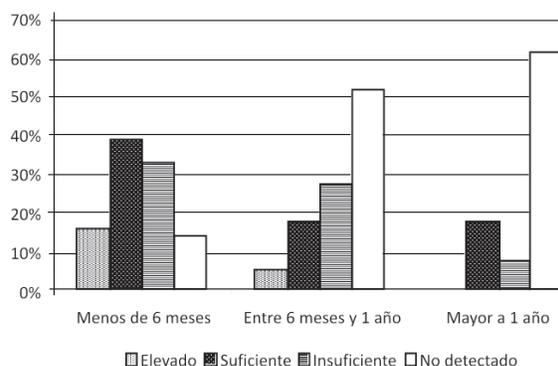


Figura 4. Nivel de protección según tiempo de vacunación previo. Los niveles corresponden a títulos de anticuerpos expresados en Unidades internacionales por mL (UI/ mL). Elevado = >4 UI/ mL, Suficiente = 0.5-4 UI/ mL, Insuficiente = 0.125-0.5 UI/ mL, no detectado = <0.125 UI/ mL. Se encontraron diferencia significativa ($\chi^2=10,82$ $p=0,001$) en el nivel de protección entre la categoría menores de 6 meses de vacunación, comparando con las demás categorías (entre 6 meses y 1 año y mayor a 1 año de vacunados).

Si analizamos la significancia estadística de la variable tiempo de vacunación previo a la extracción, observamos que hay diferencia significativas entre las categorías ($\chi^2=16,5$ $p<0,001$). Se observa que existe una diferencia significativa entre los perros con menos de 6 meses de vacunados y los que tienen entre 6 meses y 1 año de vacunados ($\chi^2=11,61$ $p=0,001$). Entre la categoría que está entre 6 meses y 1 año de vacunados y la que tiene más de 1 año de vacunados, no hay diferencias significativas ($\chi^2=0,26$ $p=0,60$). Y para la categoría con menos de 6 meses de vacunación y la que se encuentra con más de un año de vacunados, sí hay diferencia significativa ($\chi^2=10,82$ $p=0,001$).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Son muchos los factores que pueden influir para que los animales no presenten un nivel adecuado de protección tras la vacunación. Entre ellos podemos incluir la calidad de las vacunas y su capacidad inmunogénica, la forma de conservación de las mismas, la correcta administración, el estado de sanidad del animal, así como su estado nutricional. Por lo tanto, del punto de vista sanitario, esta situación debe ser abordada de forma integral, considerando todos estos aspectos como influyentes en una respuesta inmune adecuada. En este sentido, en cuanto a las marcas de las vacunas que habían sido empleadas por los veterinarios (total 4 marcas comerciales distintas), no se pudo asociar el nivel de protección con ninguna marca en particular, siendo que además el experimento no fue diseñado para tal fin. Por esta razón, no pudimos hacer ninguna apreciación en relación a la calidad de las vacunas empleadas.

En nuestro país, si bien se recomienda la vacunación en perros, la misma no es obligatoria, pudiendo ser ésta una práctica no tan frecuente. Además las revacunaciones en los animales vacunados, muchas veces no se realizan en la forma que corresponde. No se realizan campañas de vacunación masiva y tampoco existen controles oficiales para conocer el status inmunitario de la población canina. Si analizamos esta situación, podemos inferir que podrían ser pocos los caninos que llegan a ser vacunados adecuadamente, limitándose muchas veces sólo a aquellos que reciben atención veterinaria periódicamente. Además, en muchos planes de vacunación, la vacuna contra rabia es una de las últimas que el animal recibe cuando es cachorro, omitiéndose muchas veces al no completarse el plan de vacunación. Si a ésta situación le sumamos que los perros que creemos que están realmente protegidos por haber sido vacunados, no cumplen con el nivel mínimo de protección establecido internacionalmente, es una situación alarmante.

De los 140 sueros de caninos con vacunación previa analizados, sólo el 36% mostró un nivel de protección según lo establecido por la OIE (mayor o igual a 0.5 UI/ mL). Esto es un porcentaje bajo de protección que indica el status inmunológico de los animales frente al virus de la rabia. Si analizamos los resultados según tiempo de vacunación previo a extracción, vemos que los perros con vacunación reciente (menor a 6 meses) mostraron un 53% de protección, entre 6 meses y 1 año de vacunación 22,5% y con más de 1 año de vacunación 17,6%. Estos resultados permiten observar que a mayor tiempo transcurrido desde la vacunación, menor protección de los animales, resultando significativas las diferencias de las categorías 2 y 3 respecto a los recientemente vacunados (menor a 6 meses), pero no fueron significativas las diferencias entre las categorías entre 6 meses y

un año y más de un año de vacunación. La revacunación anual se recomienda comúnmente en nuestro país contra la rabia canina. Este plazo podría no ser suficiente para mantener un nivel de protección adecuado en la población.

Si comparamos los resultados obtenidos en este trabajo con otros realizados en América Latina, vemos que resultados similares se observaron en Perú en 2007, donde sólo el 32% de caninos hacía 3 meses de vacunados, presentaron protección (Lopez y col., 2007). Resultados con menor protección se encontraron en Colombia donde sólo el 24.5% de caninos vacunados hacían 6 meses, estaban protegidos (Paez y col., 2007). Si comparamos los resultados obtenidos en Brasil en perros vacunados hacía un año, donde se encontraron niveles de protección en el 25% de las muestras analizadas (Almeida y col., 1997), fueron muy similares a los resultados obtenidos en nuestro trabajo, donde los perros vacunados entre 6 meses y un año y aquellos vacunados hacía más de un año presentaron niveles de protección de 22% y de 17.1% respectivamente.

Los resultados de éste trabajo, dejan de manifiesto el posible riesgo de infección que tiene la población canina analizada. Considerando que es una enfermedad reemergente en el Uruguay, el virus podría ser transmitido fácilmente entre la mayoría de la población canina en cuestión. Al no presentar un nivel adecuado de protección, constituye sin duda un problema importante para la salud pública.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la Republica por financiar el trabajo y a todos los profesionales que colaboraron con la toma de muestras.

Referencias bibliográficas

- Almeida MF, Aguilar EA, Martorelli LA, Presotto D, Brendão MM, Pereira AO. (1997). Resposta imune humoral de cães á vacina inativada, de cérebro de camundongos lactentes, utilizada nas campanhas anti-rábicas no Brasil. *Rev Saúde Publica* 31:502-507.
- Belotto A, Leanes LF, Schneider MC, Tamayo H, Correa E. (2005). Overview of rabies in the Americas. *Virus Res* 111:5-12.
- Feyssaguet M, Morize JL, Todorova V, Blanchard I, Bourgeois JP. (2005). Platelia Rabies II, a new ELISA kit for the detection of rabies antibodies in animal and human serum or plasma. OIE First International Conference. En: Proceedings and abstracts from the 1st International Conference on Rabies in Europe, Kiev, Ukraine, 15-18 June 2005.
- González JC, Briano D, Guarino H. (2009). Primer registro para el Uruguay de rabia en un murciélago no hematófago *Tadarida brasiliensis*. *Veterinaria (Montevideo)* 45:31-32.
- Knobel DL, Cleaveland S, Coleman PG, Fevre EM, Meltzer MI, Miranda MEG, Shaw A, Zinsstag J, Meslin FX. (2005). Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *Bull World Health Org* 83:360-368.
- López R, Díaz A, Condori E. (2007). Susceptibilidad canina a rabia después de una campaña de vacunación en zonas endémicas del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 24:13-19.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2005) Eliminación de la rabia humana transmitida por perros en América Latina: análisis de la situación. Washington D.C. PAHO. p 1-71.
- Paéz A, Gómez J, Calvo P, Garzón, P. (2007) Niveles de inmunidad humoral conferidos con la primera dosis de la vacuna antirrábica en caninos con dueño de la ciudad de Bogotá, Colombia. *Revista de Investigación, La Salle*. 7(2): 191-197.
- Rogan WJ, Gladen B. (1978). Estimating prevalence from results of a screening test. *Am J Epidemiol*. 107:71-76.
- StataCorp. (2009). Stata: Release 11. StataCorp LP. College Station, TX: StataCorp LP.
- Vitale E, Días LE, Lagarmilla P. (2008). Estrategia para el control de la rabia herbívora en el Uruguay. En: Academia Nacional de Veterinaria. *Rabia Paralítica*. Montevideo. Tradinco. P 69-74.