

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE MEDICINA, ENFERMERIA, NUTRICIÓN
Y TECNOLOGIA MÉDICA
UNIDAD DE POSTGRADO**



**RELACIÓN DE LA INMUNIDAD AL VIRUS DE LA RABIA EN EL
PERSONAL PREVIAMENTE VACUNADO INSTITUTO NACIONAL
DE LABORATORIOS EN SALUD (INLASA), 2020**

POSTULANTE: Nelson D. Mendoza Solano
TUTOR: Lic. MSc. Vicente Waldo Aguirre Tarquino

**Tesis de Grado presentada para optar al título de Magister Scientiarum en
Salud Pública mención Gerencia en Salud**

**La Paz - Bolivia
2021**

DEDICATORIA

Muy especialmente:

A todas las personas que participaron en el estudio, ya que sin su colaboración y apoyo desinteresado no se podría haber llevado a cabo dicho estudio, ya que día a día nos enseñan a ser mejores y esforzarnos más para así poder solucionar los problemas de salud.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, nuestro Señor, por el don de la vida y acompañarme siempre en el camino de la vida.

A **mi esposa** por su amor, paciencia y apoyo incondicional.

RESUMEN

Debido al alto índice de letalidad de la rabia, es de suma importancia la prevención de la enfermedad a través de la vacunación antirrábica, la OMS recomienda como títulos de anticuerpos protectivos en suero un mínimo de 0,5 UI/ml, por lo tanto, siempre que sea posible se debe verificar la presencia de anticuerpos en las personas en riesgo.

En el presente estudio de tipo cuantitativo, de corte transversal, analítico y correlacional, se realizó estudios serológicos a 30 funcionarios en riesgo a objeto de determinar los títulos de anticuerpos post-vacunales al virus de la rabia, mediante la técnica de SERONEUTRALIZACION en el Laboratorio de Producción de vacuna - INLASA durante el mes de diciembre 2020 y principios de enero 2021, los mismos trabajan en el INLASA y están expuestos ya sea directamente o indirectamente al virus de la Rabia por lo mismo están vacunados previamente en distintas fechas (Tratamiento Preexposición).

De las 30 muestras analizadas, 22 personas (73.3 %) presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0.5 UI/ ml, indicando un nivel de protección aceptable según la OMS.

En cuanto al grado de protección según la última dosis administrada, se pudo observar que las personas con vacunación reciente (menor a 6 meses) 14 personas mostraron un 100 % de protección, entre 6 meses y 1 año de vacunación el 87.5 % (7 personas de ocho) presentaron protección solo un paciente no estaba protegido (0.3 %). Y con más de 1 año de vacunación que corresponden a 8 personas solo 1 persona (12.5%) presentó protección (>5 UI/ml) y los restantes 7 (87.5%) estaban desprotegidos.

PALABRAS CLAVES: Virus de la rabia. Medición de anticuerpos antirrábicos. Vacunación.

ABSTRACT

Due to the high lethality rate of rabies, prevention of the disease through rabies vaccination is of utmost importance, the OMS recommend a minimum of 0.5 IU / ml as protective antibody titers in serum, therefore, whenever possible, the presence of antibodies should be checked in people at risk.

In this quasi-experimental analytical study, serological studies were carried out on 30 patients in order to determine the post-vaccination antibody titers to the rabies virus, using the SERONEUTRALIZATION technique in the Vaccine Production Laboratory - INLASA during the month December 2020 and early January 2021, they work at INLASA and are exposed either directly or indirectly to the Rabies virus, therefore they are previously vaccinated on different dates (Pre-exposure Treatment).

Of the 30 samples analyzed, 22 people (73.3%) presented antibody titers higher than 0.5 IU / ml, indicating an acceptable level of protection according to the WHO.

Regarding the degree of protection according to the last dose administered, it was observed that people with recent vaccination (less than 6 months) 14 people showed 100% protection, between 6 months and 1 year of vaccination 87.5% (7 people out of eight) presented protection, only one patient was not protected (0.3%). And with more than 1 year of vaccination corresponding to 8 people, only 1 person (12.5%) presented protection (> 5 IU / ml) and the remaining 7 (87.5%) were unprotected.

Keywords: Rabies virus. Measurement of rabies antibodies. Vaccination.

ÍNDICE	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	3
2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS	3
2.2 ANTECEDENTES LEGALES	5
2.3 ANTECEDENTES INSTITUCIONALES	7
2.4 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	9
2.5 JUSTIFICACIÓN	13
III. MARCO TEORICO	15
3.1 MARCO CONCEPTUAL VIRUS DE LA RABIA	15
3.2 VACUNAS ANTIRRÁBICAS	27
3.3 REQUISITOS DE POTENCIA	29
3.4 PREVENCIÓN DE LA RABIA EN EL SER HUMANO	30
3.5 INMUNIZACIÓN ANTES DE LA EXPOSICIÓN	31
3.6 MEDICION DE ANTICUERPOS ANTIRRÁBICOS	33
3.7 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA TÉCNICA SERONEUTRALIZACIÓN.	34
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	42
4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	44
V. HIPOTESIS	44
VI. OBJETIVOS	45
6.1 OBJETIVO GENERAL.....	45
6.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	45
VII. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	46

7.1 TIPO DE ESTUDIO	46
7.2 MUESTRA.....	48
7.3 DISEÑO METODOLÓGICO.	48
7.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN	48
7.5 CUADRO DE VARIABLES	49
7.6 INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN	51
7.7 ASPECTOS ÉTICOS.....	54
VIII. RESULTADOS	55
IX DISCUSIÓN.	62
X. CONCLUSIONES.....	65
XI. RECOMENDACIONES.....	66
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	68

ÍNDICE DE ANEXOS	PÁGINA
ANEXO 1. Formulario de recolección de dato.....	72
ANEXO 2. Encuesta.....	73
ANEXO 3. Consentimiento informado.....	77
ANEXO 4. Descripción y procedimiento de la toma de muestra.....	79
ANEXO 5. Carta de autorización por el jefe de laboratorio.....	80
ANEXO 6. Resultado corroborado con Chi cuadrado.....	81
ANEXO 7. Resultado corroborado con Chi cuadrado.....	82
ANEXO 8. Resultado corroborado con Chi cuadrado.....	83
ANEXO 9. Familia Rhabdoviridae.....	84
ANEXO 10. Diagnóstico de Laboratorio.....	85
ANEXO 11. Tratamiento Post Exposición de Rabia Humana.....	86
ANEXO 12. Descripción de insumos y costos.....	88
ANEXO 13. Microfotografía electrónica del virus.....	89
ANEXO 14. Esquema de la estructura del virus.....	90
ANEXO 15. Distribución mundial de la Rabia.....	91

I. INTRODUCCIÓN

Debido al alto índice de letalidad de la rabia, es de suma importancia la prevención de la enfermedad a través de la vacunación antirrábica, especialmente a aquellas personas que están expuestas al virus de la rabia, por ejemplo: personas que hayan sido mordidos por perros rabiosos o pinchazos accidentales con agujas que contengan el virus de la Rabia en Laboratorios donde manipulan el virus de la rabia.

En el octavo informe del comité de expertos de la OMS (1992) se ha establecido que las personas que trabajan con virus rábico vivo en un laboratorio de diagnóstico, investigación o producción, deben realizarse pruebas serológicas cada 6 o 12 meses, las cuales permitan determinar la existencia de estos anticuerpos antirrábicos. (1).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda como títulos de anticuerpos protectivos en suero un mínimo de 0,5 UI/ml, por lo tanto, siempre que sea posible se debe verificar la presencia de anticuerpos neutralizantes en las personas vacunadas y que necesiten mantener un nivel protector de anticuerpos, se aplicará anualmente una dosis de refuerzo (1). Si bien, es recomendable la dosis de refuerzo, la misma no está libre de reacciones adversas (2) que pueden afectar la salud de las personas. En el caso de sujetos que han recibido la vacuna durante periodos recurrentes, es probable que mantengan anticuerpos antirrábicos y que no necesiten la dosis de refuerzo.

En tal sentido en el presente estudio realizó estudios serológicos a 30 personas a objeto de determinar los títulos de anticuerpos post-vacunales al virus de la rabia, mediante la técnica de SERONEUTRALIZACION, esto se lo realizara en el Laboratorio de Producción de vacunas – en el instituto Nacional de Salud (INLASA), los sujetos fueron seleccionados en consideración a que trabajan en el INLASA y están expuestos ya sea directamente o indirectamente al virus de la

Rabia por lo mismo están vacunados previamente en distintas fechas (Tratamiento Preexposición).

El objetivo de los tratamientos pre- y pos-exposición es mantener un nivel de anticuerpos séricos neutralizantes suficiente como para producir una respuesta inmunológica competente. El Tratamiento Preexposición (antes de contraer la infección) se utiliza en personas que por la naturaleza de las actividades que desarrollan tienen la posibilidad de infectarse con el virus de la rabia. La profilaxis Preexposición es administrada entre otras razones, con el fin de simplificar la terapia después de la exposición eliminando la aplicación de globulina antirrábica y disminuir el número de vacunas antirrábicas necesarias, punto de particular importancia en personas con alto riesgo de exposición. (3)

El esquema de vacunación preventiva con la vacuna antirrábica CRL que se utiliza actualmente en nuestro País consiste en cuatro dosis los días 0, 7 y 28 y una dosis de refuerzo el día 90, la vacuna que se utiliza actualmente se produce en el INLASA desde 1970, según la técnica desarrollada por E. Fuenzalida y R. Palacios, (vacuna en tejido cerebral de ratón lactante CRL) la que ha sido una herramienta eficaz en el control de la rabia animal y humana; sin que se hayan reportado reacciones adversas graves a la vacuna en más de 40 años (3)

La rabia produce una encefalitis viral fatal que puede afectar a cualquier vertebrado homeotermo y constituye un problema relevante en la salud pública de gran parte del mundo debido a su amplia distribución y a sus características de zoonosis. Se han ido aplicando diferentes tratamientos para combatir la enfermedad hasta que, en 1884 Louis Pasteur, inicia la era del tratamiento antirrábico mediante vacunación. (4)

No existe tratamiento específico para esta enfermedad y debido al alto índice de letalidad, es de suma importancia la prevención de la enfermedad a través de la vacunación antirrábica, para lo cual se dispone de vacunas que contienen virus inactivado propagado en animales o en cultivos celulares. (4)

II. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La rabia existe en todas las regiones del mundo excepto en la Antártida, siendo la incidencia mundial de la rabia humana realmente desconocida, pero especialmente elevada en Asia (India principalmente) y en África.

La OMS estima unas 59.000 muertes anuales por esta enfermedad, la gran mayoría en zonas rurales de países en desarrollo debido a la existencia de rabia animal canina. Como ejemplos, en La India, se estiman 20. 000 casos de rabia humana (es decir, alrededor de 2/100.000 habitantes están en situación de riesgo), y en África, la cifra correspondiente estimada en 2010 fue de unos 24.000 casos (alrededor de 4/100.000 habitantes en situación de riesgo). Así mismo, se calcula que, gracias a la vacunación tras la exposición, en la actualidad se previenen unas 327.000 muertes anuales en el mundo.

Desde 1975, en Bolivia se aplica la Vacuna Antirrábica tipo Fuenzalida Palacios empleando como sustrato el cerebro de ratones lactantes de menor de 24 horas. de nacido.

Durante cada año son beneficiados las personas que sufren accidentes de mordeduras de perros, murciélagos o animales salvajes recibiendo un tratamiento post-exposición con esquema reducido o clásico según el riesgo, el cual esta descrito detalladamente en la norma Nacional de Profilaxis de la Rabia que se utiliza actualmente. Se estima que aproximadamente hay 60 a 100 casos de mordeduras por día en la Ciudad de La Paz. El año 2017 se aplicó aproximadamente 140.000 dosis de Vacuna Antirrábica de uso Humano a personas en riesgo. (3)

Por otro lado, también se benefician con un tratamiento pre-exposición, aquellas personas que necesitan profilaxis antirrábica las de algún modo están en contacto permanente al virus de la Rabia (veterinarios, productores de vacuna antirrábica, etc.). (3)

En Bolivia el 2017 fue el año con más casos de rabia canina y fallecimientos por rabia humana de los últimos diez años en Bolivia. Hasta agosto de ese año se habían registrado 640 perros con rabia en todo el país, casi cinco veces más que en 2016, según datos del Programa Nacional de Zoonosis del Ministerio de Salud.

(5)

2.2 ANTECEDENTES LEGALES

DECRETO SUPREMO N° 15404

Autorizar al Servicio Nacional de Control de la Fiebre Aftosa, Rabia y Brucelosis el control sanitario de las embarcaciones que transporten toda clase de ganado.

DECRETO SUPREMO N° 18649 Declárase prioridad Nacional la ejecución de la segunda fase de defensa pecuaria del Servicio Nacional de Control de la Fiebre Aftosa, Rabia y Brucelosis (SENARB), que comprende los Departamentos del Beni, Pando, Chuquisaca y Tarija.

DECRETO SUPREMO N° 14682

Transferir a título gratuito en favor del Servicio Nacional de Control de la Fiebre Aftosa, Rabia y Brucelosis las propiedades "El Salado" de 150 hectáreas ubicadas en el cantón Puerto Suárez, Provincia Chiquitos, concedida al Ministerio de Agricultura, mediante D S. N° 04535 de fecha 7 de diciembre de 1956, inscrito a fs. 146, N° 145 del Registro de Propiedades de la Provincia Chiquitos, en fecha 18 de diciembre de 1976; 1.600 m2. de terreno ubicados en San Ignacio, capital de la Provincia Velasco, en mérito a la Escritura N° 263 de 16 de diciembre de 1976, inscrito a fs. 67, N° 67 del Registro de la Propiedad de la Provincia Velasco, en 18 de diciembre de 1976 del Departamento de Santa Cruz, y 10.000 m2. de terreno en la zona Irquicollo, ciudad de Quillacollo, provincia del mismo nombre del Departamento de Cochabamba, conforme a los términos de la Escritura Pública N° 113 de 9 de abril de 1962, registrada a fs. 606, partida N° 1650 del libro primero de propiedad de la Provincia Quillacollo, en 21 de diciembre de 1976.

Conforme al Código Zoonosario de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), que es la Organización Mundial de Sanidad Animal, la rabia se encuentra en la Lista "B" de notificación de enfermedades que se consideran importantes desde el punto de vista económico y sanitario. (6)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE 10), de la Organización Mundial de la Salud

(OMS), en su Décima Revisión, la rabia humana se clasifica como: Rabia: A 82; Rabia Silvestre (Selvática): A82.0; Rabia Urbana: A82.1 otra especificación A82.9.on la Salud (CIE 10), de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en su Décima Revisión, la rabia humana se clasifica como: Rabia: A 82; Rabia Silvestre (Selvática): A82.0; Rabia Urbana: A82.1 otra especificación A82.9. (CIE 10-OMS 1994).

2.3 ANTECEDENTES INSTITUCIONALES

El Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA) denominado «NÉSTOR MORALES VILLAZÓN» fue fundado el 08 de agosto del año 1908. Autor: Dr. Christian Trigoso.

El sistema organizacional del INLASA es típico de la administración pública desconcentrada, está constituido por la Dirección General Ejecutiva, el Consejo Técnico, los Comités Institucionales, Unidades de Asesoría, las Unidades de Apoyo y las Unidades Funcionales.

Las Unidades Funcionales Técnicas son:

Unidad de Diagnostico Laboratorial. Que se encarga realizar el diagnóstico precoz de pacientes con enfermedades frecuentes (virología, bacteriología, inmunología, análisis clínico, etc.).Unidad de Producción de Inmuno-biológicos. La cual es la encargada de producir biológicos los cuales satisfacen las demandas del país (Vacuna Antirrábica de uso Humano, suero antirrábico heterólogo, sueros antiofídicos, etc.)

Unidad de Control de Calidad, es un área de apoyo técnico normativo, cuya función es planificar, coordinar supervisar, evaluar y ejecutar las actividades relacionadas a la implementación, mantenimiento y actualización del sistema de gestión de calidad.

Unidad de Red Nacional de Laboratorios de Salud, La Red Nacional de Laboratorios promueve la interacción de los laboratorios del país, genera información y conocimiento técnico-científico con calidad para la prevención y control de eventos de interés en salud pública, factores de riesgos sanitarios y ambientales como soporte para la planeación y orientación de las acciones en salud pública que impacten favorablemente en las condiciones de vida de la población.

La investigación se realizó en la unidad de inmuno-biológicos donde produce la Vacuna antirrábica de uso Humano.

En la unidad de inmuno-biológicos, trabajan actualmente 30 personas, de las cuales todos los funcionarios reciben la vacuna antirrábica de refuerzo o por accidente.

No hay estudios similares en la institución. Por lo cual este estudio será el primero en cuantificar los niveles serológicos de la Vacuna Antirrábica en CRL producida en el INLASA en tratamiento PRE- EXPOCISION en seres Humanos, utilizando un esquema alternativo reducido.

2.4 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

El año 2004, en Chile se realizó un trabajo de investigación cuyo fin fue evaluar la capacidad inmunogénica de la vacuna antirrábica tipo Fuenzalida-Palacios (CRL) y de la vacuna antirrábica de cultivo celular (Verorab) en personas con tratamiento Preexposición, en la que se determinó que en ambas vacunas hay reacción inmunitaria protegiendo de rabia a las personas, sin embargo, la Vacuna en cultivo celular genera anticuerpos en mayor cantidad y los mismos se producen más tempranamente (día 14) en relación a la CRL que alcanza su nivel de protección el día 21. (7)

En 1999 en Chile se realizó la "Comparación antigénica y de la respuesta inmune en ratones desafiados con virus CVS y aislados «calle» y «fijo» presumiblemente atípicos del virus rábico en cuyo caso la respuesta fue a misma (ambos virus son viables) a excepción que el virus calle tarda más en desarrollar su actividad que es por el día 22 a 25 (8)

En 1993 se evaluó la técnica de contra-inmuno-electroforesis para determinar la pertenencia de las Vacunas antirrábicas, (CRL y BHK) estudio que se realizó en la ciudad de Sao Paulo Brasil en la que previamente se estandarizó la misma con la técnica de seroneutralización cuyo resultado final fue la validación de la misma. (9)

Evaluación de los esquemas de vacunación antirrábica en personas mordidas por animales y atendidos en un consultorio urbano de la provincia de Valdivia los años 2005-2006 como resultado ambos esquemas obtuvieron resultados satisfactorios (10).

En el instituto de medicina tropical "Pedro Kourí" la Habana Cuba en el 2003 se realizó la detección de anticuerpos antirrábicos en personal de riesgo con el empleo de la técnica de neutralización por reducción del número de placas en personas Preexposición y pos-exposición, el mismo se estandarizó con la prueba

biológica seroneutralización y los resultados son válidos empleando esta nueva técnica (11).

En Suecia y Noruega en 1993, se realizó un estudio en el que evaluó la respuesta inmunológica mediante la medición de los niveles de anticuerpos encontrados post-vacunación, la vacuna empleada fue realizada mediante la inactivación del virus, la prueba utilizada para éste fin fue la inhibición de focos fluorescentes rápida en suero, se estableció que para obtener títulos protectivos se requiere vacunar anualmente, ya que los caninos después de una sola dosis alcanzaron niveles de 0.5UI/ml, por lo cual se concluye que la inmunidad conferida es baja. (12)

Evaluación de títulos de anticuerpos post vacunales del virus de rabia canina mediante la técnica de Elisa en la Ciudad de santa cruz de la sierra, año 2006 cuyos resultados fueron 50% protegidos y 50 % desprotegidos de un empleando la Vacuna Antirrábica de uso veterinario. (13)

En 2008 se realizó el siguiente estudio: “Respuesta de anticuerpos a una vacuna antirrábica en una población canina en condiciones de campo en Bolivia” El objetivo del presente estudio fue evaluar la inmunidad de una vacuna inactivada de cerebro de ratón lactante contra la rabia canina utilizada para las campañas oficiales de vacunación en condiciones de campo en una zona endémica de rabia en Bolivia. Un total de 236 perros vacunados y 44 no vacunados en Santa Cruz de la Sierra, cuyos resultados indica que el título de anticuerpos para perros vacunados (0,89 UE / ml; IC del 95%: 0,75-1,04) cumplía con el nivel mínimo aceptable que indica una respuesta inmune adecuada a la vacuna. (14).

Seroprevalencia de anticuerpos neutralizantes del virus de la rabia en diferentes grupos de perros tras la vacunación, Se siguió a los perros para determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la rabia. En total, 510 perros previamente vacunados y no vacunados con dueños (perros domésticos) y perros sin dueños (perros callejeros) de la raza de perros guardianes local en

diferentes grupos de edad reclutados en el distrito de Kalutara, Los perros se vacunaron con una vacuna inactivada monovalente por vía intramuscular y los títulos de anticuerpos séricos en los días 0, 30, 180 y 360 se determinaron mediante la Prueba Rápida de Inhibición del Foco Fluorescente (RFFIT). Los resultados indicaron que una dosis única de vacunación antirrábica no logra generar un nivel protector de inmunidad (0,5 UI / ml) que dura hasta 1 año en el 40,42% de los perros sin dueño y el 57,14% de los juveniles no vacunados previamente (edad: 3 meses a 1 año) perros con dueño. (15)

Respuesta inmune tras una campaña de vacunación contra la rabia en perros del noroeste de España año 1997, Se ha realizado un estudio transversal para determinar la seroprevalencia de anticuerpos frente al virus de la rabia en 156 perros vacunados, La seroprevalencia se estableció mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), indirecto. De los 156 animales probados, 91 (58,3%) dieron positivo (títulos de 0,5 UI ml⁻¹ o más). Sin embargo, la provincia de Soria mostró una seroprevalencia significativamente mayor (77,1%) que la provincia de León (50%). Se evaluó edad, sexo, hábitat y uso con respecto a la respuesta obtenida tras la vacunación: no se encontraron diferencias significativas para ninguno de estos factores. (16)

En el año 2020 se realizó el trabajo: “Inmunidad Poblacional Contra El Virus De La Rabia En Canes Previo A La Campaña De Vacunación Antirrábica En El Distrito De Surquillo, Lima – Perú” Se colectó muestras sanguíneas de 141 canes > a 3 meses, de ambos sexos y aparentemente sanos. Se clasificaron en dos grupos: canes que no habían recibido vacunación antirrábica (30) y los que tenían registro de vacunación. Del total de canes vacunados el 73.9% (82) superaron el límite de seroconversión y estuvieron protegidos según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (0.5UI/ml). Los canes menores de un año de edad ($p=0.028$) y los que no recibieron vacunación hace más de tres años ($p=0.05$) fueron más receptivos al virus. Los canes inmunizados en la campaña de vacunación antirrábica ($p=0.005$), con

vacuna monovalente ($p=0.005$) en los tres últimos años de vacunación fueron los menos receptivos (17).

En Perú el 2020 se realizó el estudio Estado de inmunidad humoral posvacunal de caninos y felinos en un foco de rabia canina de origen silvestre de una región de Colombia en el que se realizó un muestreo a 130 caninos y 38 felinos se midió los anticuerpos antirrábicos con ELISA. Los resultados fueron: El 40% (52) de los caninos obtuvieron títulos correspondientes a la categoría protegidos, 59% (77) insuficiente protección y 1% (1) sin protección. Los felinos presentaron una distribución porcentual similar entre las categorías: protegido 34% (13), insuficiente protección 32% (12) y sin protección 34% (13). (18)

En el año 2016 en la ciudad de Guatemala se realizó un estudio en el que se generaron datos en Guatemala sobre la situación actual de vacunación antirrábica en Médicos Veterinarios y/o Zootecnistas. Del total de encuestados (132) un 65.15% (86) respondieron haber estado en riesgo de contagio con rabia, de los cuales un 79.07% (68) recibieron vacunación antirrábica post-exposición, un 98.53% (67) cumplieron el esquema completo de vacunación. La vacunación Preexposición obtuvo un resultado de un 55.30% (73) del total de encuestados (132), 67/73 (91.78%) terminaron el esquema y solamente 11 encuestados tuvieron su última vacuna en los años 2015 y 2016. (19)

2.5 JUSTIFICACIÓN

Entre las enfermedades infecciosas, la rabia continúa representando un importante problema de salud pública en Bolivia. La magnitud alcanzada por esta enfermedad se traduce en una permanente amenaza para la salud de la población, conduciendo además a un gasto considerable para el país en lo que respecta a las acciones de control a ser efectuadas. (3)

Siendo tan graves las consecuencias de esta enfermedad a nivel del individuo, como a nivel social por los problemas psicológicos o emocionales que se generan alrededor de la enfermedad y por los gastos que se generan en las medidas de prevención y control de esta patología. Por lo tanto, todo conocimiento nuevo generado alrededor de esta temática, será valioso en el proceso diagnóstico, preventivo y terapéutico. (20)

En el contexto nacional y global existen personas que tienen mayor probabilidad de contraer la enfermedad, debido a su actividad laboral ya que están en contacto constante con el virus de la rabia ya sea la saliva del animal (animales domésticos o salvajes), también podemos mencionar las personas que elaboran vacunas antirrábicas ya que manipulan directamente al virus de la rabia, entre la actividad laboral de riesgo podemos detallar a los siguientes: Conservadores de la naturaleza, investigadores, científicos y personal de laboratorio en general que están en contacto con animales de experimentación, veterinarios, empleados de zoológicos, perreras especialmente los del área de cuarentena, cuidadores de animales en general, etc.

La persona en riesgo debe recibir Vacuna Antirrábica de forma profiláctica 4 dosis al inicio según los protocolos estandarizados y una dosis de refuerzo de forma anual. Hay personas que trabajan más de 40 años y las mismas han recibido más de 40 dosis rutinariamente sin contar con las dosis administradas por algún accidente laboral. (21)

Se tiene certeza que a mayor dosis mayor probabilidad de desarrollar efectos colaterales graves especialmente con vacunas antirrábicas cuyo sustrato es el cerebro de ratón lactante.

Entre los efectos secundarios, la literatura destaca los siguientes:

1. Locales: ocasionalmente se presenta en el sitio de aplicación: eritema, prurito, dolor, moderada inflamación y adenopatías, lo cual no implica la suspensión del tratamiento; estas molestias deben ser tratadas con analgésicos y calor local. (3)
2. Generales: a veces se puede presentar fiebre moderada y malestar general.
3. Neuro-paralíticas: con los antiguos esquemas de tratamiento ocurrían, aproximadamente, en 1 de cada 20.000 vacunados; se manifestaban como una poli-neuro-rradiculopatía con paresias o parálisis y más raramente, como una encefalopatía. Son manifestaciones la cefalea, tendencia a las náuseas, vómito, alteraciones de la visión o manifestaciones de lesión espinal (mielopatía); hoy es justo subrayar que, con los actuales esquemas descritos en esta guía, las reacciones neuroparalíticas han desaparecido casi por completo. Sin embargo, si durante el tratamiento aparece alguno de estos síntomas, SE DEBE SUSPENDER DE INMEDIATO LA VACUNACIÓN Y REMITIR AL PACIENTE AL MÉDICO DEL ORGANISMO DE SALUD MAS CERCANO (21)

Por lo tanto, es de vital importancia realizar este estudio para ver la posibilidad alargar el tiempo de la dosis de refuerzo y evitar los efectos secundarios de aquellas personas que están riesgo por reducir dosis recurrentes.

Además de este grupo de personas, los resultados también pueden servir para definir estrategias y programas de prevención en personas que tienen alto riesgo de contraer rabia, por ejemplo, veterinarios, personal municipal, cuidadores de mascotas que con el tiempo van incrementándose en las urbes, entrenadores de mascotas, policías que trabajan con perros policías, personas de narcóticos, estudiantes de veterinaria, personas que visitan cavernas donde hay murciélagos y cualquier persona que necesite medir la tasa de anticuerpos.

III. MARCO TEORICO

3.1 MARCO CONCEPTUAL VIRUS DE LA RABIA

ETIOLOGÍA:

El virus de la rabia pertenece a la familia Rhabdoviridae (del griego, rhabdos= vara) y al género Lyssavirus (del griego Lyssa=Locura). Este género comprende 7 genotipos, el virus de la rabia clásica o “virus calle” y las cepas fijadas de las vacunas pertenecen al genotipo 1, los otros genotipos corresponden a virus similares al virus de la rabia (18).

El virus de la rabia tiene una estructura en forma de bala con un diámetro de 75 nm y una longitud de 100 a 300nm. Su genoma de ARN de hebra simple de polaridad negativa, está asociado a una cápside de simetría helicoidal, que a su vez están cubiertos por una envoltura o manto viral con espículas. El virión posee 4 proteínas estructurales (nucleoproteína N, fosfoproteína M1, proteína de matriz o de membrana M2 y glicoproteína G) y una proteína no estructural la ARN polimerasa ARN dependiente (proteína L). La nucleocápside está conformada por el ARN asociado a tres proteínas: L, N y M1. (22)

Variaciones en la secuencia del gen de la glicoproteína G pueden alterar las propiedades patogénicas, antigénicas o inmunológicas del virus. La proteína N tiene un papel importante en el diagnóstico e identificación de las variantes antigénicas virales utilizando paneles anticuerpos monoclonales anti-nucleocápside (Mab-N) que nos permiten conocer el reservorio del virus. Debido a que el gen-N está altamente conservado, su análisis molecular permite detectar variantes genómicas del virus (22).

El virus de la rabia es sensible a solventes de lípidos (solución de jabón, éter, cloroformo y acetona), etanol 45 a 70%, preparaciones yodadas y compuestos de amonio cuaternario (3).

Dentro de los virus rábicos "clásicos" debe señalarse la distinción entre el "virus calle" y el "virus fijo". La denominación de "virus calle" se refiere al de reciente aislamiento de animales y que no ha sufrido modificaciones en el laboratorio. Las cepas de este virus se caracterizan por un período muy variable de incubación, que a veces es muy prolongado, y por su capacidad de invadir las glándulas salivales. En cambio, la denominación de "virus fijo" se refiere a cepas adaptadas a animales de laboratorio por pases intra-cerebrales en serie, que tiene un período de incubación corto, de solo 4 a 6 días, y no invaden las glándulas salivales (22) (23).

VIRUS RELACIONADOS CON LA RABIA

Familia de Rhabdoviridae.

El virus de la rabia pertenece a la Orden de Mononegavirales de los cuales el genoma es un ARN de una sola cadena de polaridadnegativa. Este orden comprende tres familias (4) (24)

:

- Familia de Paramyxoviridae
- Familia de Filoviridae
- Familia de Rhabdoviridae
- La familia de Rhabdoviridae que comprende el virus rábico,comprende una centena de virus de mamíferos, peces, crustáceos,reptiles y plantas. Entre los rhabdovirus, aquellos que infectan losmamíferos pertenecen a tres géneros:
 - Vesiculovirus (Virus de la Estomatitis Vesicular, VSV)
 - Lyssavirus (Virus de la rabia)
 - Ephemerovirus (Virus de la Fiebre Efímera Bovina)

GÉNERO LYSSAVIRUS

En el género Lyssavirus, diferentes serotipos habían sido caracterizados gracias al empleo de una bacteria de anticuerpos monoclonales. Así han sido identificados 5 principales serotipos.

Entre otros, el análisis de las secuencias del genoma viral ha permitido definir 7 genotipos dentro del género Lyssavirus.

El serotipo 1 comprende todas las cepas de virus rábico (rabia salvaje, rabia de las calles, las cepas de rabia fijas y las cepas vacunales) (4) (24)

Estos virus pueden presentar cierto grado de reacción cruzada con el virus rábico, en las pruebas de inmunofluorescencia y fijación del complemento; por tanto, es posible cierta confusión en el diagnóstico de rabia. La introducción de estos virus de África en otros países complicaría el diagnóstico de la enfermedad y obligaría a preparar reactivos específicos para estos agentes. Asimismo, debe tomarse en cuenta que la vacuna antirrábica no confiere protección contra los virus relacionados.

En los estudios comparativos de patogenia realizados en hámster con cepas de rabia clásica, Lagos y MOK se ha comprobado que los tres virus son similares en cuanto a su tropismo y al curso de la infección. En la experimentación también se ha demostrado que ratones, hámster, perros y monos son susceptibles a la inoculación intra-cerebral de los virus africanos (Lagos y MOK), y los agentes pueden volver a aislarse del cerebro y glándulas salivales; en cambio, la inoculación de esos serotipos por otras vías raramente resulta en la muerte de los animales. Las cepas aisladas de mosquitos (OBOD) son patógenas solo para ratones lactantes inoculados intra cerebralmente. En el ganado bovino, ovino, equino, como también en roedores e insectívoros del norte de Nigeria se encuentran con frecuencia anticuerpos neutralizantes para el virus KOT. (11)

PATOGENIA E INMUNIDAD

La rabia puede ser transmitida por mordedura, lamedura o rasguño producidos por un animal enfermo. Otras vías de infección son la inhalación de aerosoles, trasplante de órganos de individuos infectados (por ejemplo: córnea), inoculación a través de mucosas intactas y tracto digestivo y trans-placentaria (de vacas a terneros). (3)

El período de incubación en humanos es variable, desde < 10 días hasta > 6 años, con un promedio de 1 a 3 meses. El tiempo depende de la distancia entre el punto de infección y el SNC, de la densidad de terminaciones nerviosas en el lugar de la mordedura, de la cantidad y la cepa de virus. Durante el periodo de incubación, el virus es indetectable y se replica localmente en el sitio de inoculación, de modo habitual en el músculo estriado, exponiéndose temporalmente al sistema inmune. Posteriormente, dado su neurotropismo, el virus ingresa a las terminaciones nerviosas motoras y sensoriales del sistema nervioso periférico mediante la unión de la glicoproteína G a receptores celulares como el receptor nicotínico de acetilcolina, moléculas de adhesión celular neuronales (CD56) y el receptor de neurotrofinas p⁷⁵ (NTRp⁷⁵), los cuales median la endocitosis mediada por receptores, mecanismo por el cual el virus ingresa a la célula. (4)

El virus de la rabia avanza centrípetamente mediante transporte axo-plásmico retrógrado hasta los ganglios de las raíces dorsales, una vez que alcanza la médula espinal, se produce con rapidez el ascenso hasta el cerebro, generando una encefalitis. Posteriormente se disemina en dirección centrífuga hacia órganos ricos en inervación como piel cabelluda, córnea, glándulas salivales, etc., asegurando la transmisión de la infección. Con raras excepciones, la rabia es una enfermedad mortal una vez que aparecen las manifestaciones clínicas. (4)

INMUNOLOGÍA

En rabia, la detección de anticuerpos protectores (anticuerpos neutralizantes), se inicia hasta los 10 u 11 días de la presentación de los síntomas, es decir, la formación de anticuerpos protectores requeriría más de siete días de los que generalmente dura el periodo de estado de la enfermedad.

Una probable razón por la cual no se genera inmunidad útil en rabia es que los virus al encontrarse dentro de las neuronas están protegidos del sistema inmunitario, precisamente en sitios desprovistos de drenaje linfático, por lo que las células linfáticas no entran en contacto hasta tiempo después de iniciada la enfermedad. (Díaz y col., 1989).

Se considera que el enfermo con rabia evoluciona a la muerte, porque no genera inmunidad útil que impida la infección al Sistema Nervioso Central. El virus de la rabia induce títulos rápidos y adecuados de anticuerpos para fijación de complemento (CF) y neutralización en suero (SN). Además de interferón. Recientemente se han utilizado anticuerpos monoclonales preparados contra determinantes de glicoproteína y glucocapside viral para distinguir entre serotipos y cepas del virus rábico. (Mohanty y Dutta, 1988) (4)

EPIDEMIOLOGÍA

La Rabia es una enfermedad prevenible mediante vacunación y aun así continúa siendo un problema de salud pública a nivel mundial con presencia en todos los continentes. (Ver Figura4). No existe en las islas como ser: Australia, Japón, Nueva Zelanda, Inglaterra, etc. y otros territorios de Europa como ser Grecia, Portugal, Suecia y Noruega. En Latino América Uruguay y Chile están libres de rabia humana transmitida por perros. (20)

Son reportados anualmente más de 55.000 muertes por esta enfermedad, mayoritariamente en zonas del mundo donde aún existe rabia canina, la mayoría de las víctimas son niños y en el 30 a 50% de ellos ocurren en menores de 15

años. Generalmente, los niños que mueren no fueron tratados o no recibieron un adecuado tratamiento post exposición. (25)

El virus de la rabia infecta a todos los animales de sangre caliente, se mantiene y disemina en la naturaleza a través de diversos reservorios. La rabia puede presentarse en dos formas: rabia urbana y rabia selvática. En la rabia urbana, los animales domésticos como el perro y el gato son las principales fuentes para la transmisión al hombre, principalmente en países en desarrollo. En la rabia silvestre animales como ser murciélagos (hematófagos y no hematófagos), zorros, zorrinos, lobos, mapaches, mofetas, coyotes y hurones son los principales reservorios y en algunos países del Caribe, las mangostas. (1,3)

La rabia paralítica bovina, transmitida por vampiros, solamente se presenta en América, en países como México, Argentina, Brasil y Uruguay, generando grandes pérdidas económicas y la transmisión al hombre se ha incrementado como resultado de la expansión de asentamientos humanos en áreas que constituyen el hábitat del vampiro.

La rabia se presenta en todos los continentes con excepción de la mayor parte de Oceanía. En la actualidad, varios países están libres de la infección, entre ellos Uruguay, Barbados, Jamaica y varias otras islas del Caribe en las Américas; Japón en Asia; varios países escandinavos, Irlanda, Gran Bretaña, Países Bajos, Bulgaria, España y Portugal en Europa (Organización Mundial de la Salud, 1982). La rabia no tiene una distribución uniforme en los países infectados, ya que en muchos de ellos existen áreas libres, de baja y de alta endemicidad, y otras con brotes epizoo-endémicos. (20)

La rabia continúa siendo una de las zoonosis más importantes en el mundo, y representa un problema serio en muchos países. Se trata de una enfermedad

infecciosa viral, aguda y de consecuencias fatales. Afecta principalmente el sistema nervioso central (SNC) y al final produce la muerte en su víctima.

El virus de la rabia se encuentra difundido en todo el planeta y ataca a los mamíferos domésticos y salvajes, incluyendo al hombre. El microorganismo se encuentra en la saliva y en las secreciones de los animales infectados y se inocula al hombre cuando éstos lo atacan y provocan en él alguna lesión por mordedura; además puede ser transfundido cuando un individuo que tiene alguna cortada en la piel (vía de entrada del virus) tiene contacto con las deyecciones y micciones de un animal infectado. (22)

La rabia ha recibido algunos otros nombres tales como hidrofobia, derriengue o rabia parálitica; en bovinos: encefalitis bovina, lisa (locura). Los romanos usaron la palabra rabere (rabiarse), de donde se derivó el término actual.

Las especies carnívoras de una gran cantidad de países son los reservorios naturales de la rabia, en donde se ha visto mayor incidencia, y son los principales transmisores de la enfermedad. Animales domésticos como perros y gatos principalmente, y animales silvestres como lobos, zorros, se cuentan como los causantes de la difusión del virus en muchos lugares del mundo. (1)

ASPECTOS CLÍNICOS

En Humanos

Se diferencian 5 fases 1. Incubación, 2. Prodrómico (en el que aparecen los primeros síntomas, 3. Fase neurológica aguda, 4. Coma. 5. Muerte o recuperación. Periodo de incubación. - Varía ampliamente.

Animales 10 a 200 días (14 a 90 días), para perros y gatos y la cuarentena es de 10 días.

Hombre 3 a 8 semanas (7 días a 8 semanas) 7 días a mayor de dos años.

Prodrómico. -Los primeros síntomas son inespecíficos: fiebre, dolor muscular, agitación, ansiedad, vómitos, cefalea, dolor en la extremidad mordida. A partir de ese momento el virus se replica y viaja hasta el cerebro y el sistema inmune no

puede continuar luchando contra el virus (en general de 2 a 4 días en el hombre). (20).

Fase neurológica aguda. - Se produce una rápida (horas), proliferación del virus en el SNC, cerebro, tálamo, ganglios basales y médula espinal, los títulos de viremia son muy bajos, puede encontrarse virus en la leche, tracto respiratorio, riñones, mucosas, músculo, piel, y altos títulos en la saliva. El cerebro empieza a inflamarse (encefalitis), el individuo fluctúa entre la conciencia y la confusión, comportamiento agresivo con episodios violentos, convulsiones y ataques (forma furiosa), alucinaciones, hidrofobia (sialorrea) inducida por espasmos faríngeos, aerofobia, hipersensibilidad a la luz, ruido y olores (20).

Coma y muerte.- Los espasmos disminuyen porque se produce parálisis, a nivel cardíaco se producen arritmias, la encefalitis cerebral produce colapso de los principales órganos, pupilas que no reaccionan a la luz, la muerte es consecuencia de la encefalitis y del fallo multi-sistémico. Esta fase en el hombre tiene una duración de 3 a 6 días. La tasa de mortalidad es de 99 % Solamente se han descrito 4 casos de recuperación humana, con secuelas cerebrales (20).

El tiempo del periodo de incubación en humanos depende de la cantidad de virus depositado y de la distancia entre el sitio de inoculación y el cerebro. La fase prodrómica es de 1 a 10 días e incluye fiebre moderada, malestar, anorexia, dolor de cabeza y náuseas. Dolor, hormigueo y pequeños movimientos involuntarios alrededor del sitio de la exposición son sugestivos de rabia incipiente. A partir este punto el curso de la enfermedad puede tomar el desarrollo de rabia furiosa o parálitica. La rabia furiosa se caracteriza por signos neurológicos agudos, puede incluir insomnio intermitente, ansiedad, confusión, parestesia, excitación, agitación, alucinaciones, déficit del nervio craneal, corea, disfagia, hiper-salivación, piloerección, priapismo, parálisis y algunas veces comportamiento

maniaco, son notables los síntomas clásicos de hidrofobia o aerofobia que se manifiestan como espasmos faríngeos fóbicos que siguen a estímulos provocativos. Períodos de lucidez se alternan con pérdida de la conciencia. El curso clínico es agudo con muerte en coma y parálisis generalizada que normalmente sucede dentro de días y paro cardio-respiratorio. La otra forma de presentación clínica menos dramática, es la denominada rabia “muda” o paralítica, caracterizada por parálisis ascendente, la hidrofobia no es una característica predominante. En estos casos la médula espinal está más afectada que el cerebro. Al igual que en la rabia furiosa, la muerte es inevitable. (21) (20)

Existen cinco casos bien documentados de supervivencia a partir de rabia clínica (todos con una historia de vacunación antirrábica de pre o post exposición), existiendo un solo caso de supervivencia mediante la inducción de coma y sin la administración de vacuna ni suero antirrábico (Ver tratamiento). (6)

En animales

Se puede presentar tanto la rabia furiosa como la paralítica o muda. Cambios tempranos en la conducta del animal es una característica. Uno de los signos más consistentes de rabia en animales es la parálisis motora ascendente, con debilidad e incoordinación de los miembros posteriores y acentuación de la disfunción locomotora. El desarrollo de paraplejía sin historia de lesión traumática compatible es muy sospechosa de rabia. (6)

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El antecedente de exposición a un animal sospechoso y los síntomas neurológicos permiten en general el diagnóstico clínico de la rabia, siendo esencial que el estudio epidemiológico de enfermedad o muerte por sospecha de rabia tengan confirmación de laboratorio dado que muchas otras encefalitis pueden ser confundidas con rabia. (26)

El diagnóstico en animales, no se realiza en el animal vivo. El animal sospechoso mordedor debe ser observado por 10 días. Si en este tiempo no hay síntomas, no habrá posibilidad que la persona mordida sufra de rabia, debido a que el virus se encuentra en la saliva solamente entre 3 y 7 días antes de la aparición de los síntomas de rabia. (26)

Las pruebas de laboratorio más ampliamente utilizadas actualmente. La histopatología antes comúnmente empleada aún es utilizada en algunas partes del mundo, se basa en la tinción del tejido nervioso para detección de inclusiones intracitoplasmáticas llamadas "Corpúsculos de Negri" (26)

La detección de antígeno rábico mediante Inmunofluorescencia directa (IFD) se ha convertido en el método de elección para el diagnóstico de laboratorio de la rabia, debido su alto grado de sensibilidad y especificidad, en muestras tejido nervioso fresco o congelado. (26)

El virus puede ser aislado en cultivos celulares y tras inoculación intra-cerebral de ratones lactantes o ratones recién destetados, en ambos casos es necesaria la confirmación diagnóstica por IFD. Actualmente, están disponibles pruebas de biología molecular que detectan el ácido nucleico viral mediante la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR) convencional que requiere la transcripción reversa del RNA viral y posterior amplificación del ADNc., o bien, mediante la PCR en tiempo real. Sin embargo la extrema sensibilidad de estas pruebas puede incrementar la probabilidad de falsos positivos a partir de una contaminación de laboratorio. Por este motivo, no son recomendadas para el diagnóstico de rutina de la rabia. (26)

El diagnóstico antemortem en humanos puede ser realizada mediante: Aislamiento viral y detección de genoma viral a partir de saliva, LCR y biopsia de piel cabelluda, detección de antígeno viral en impresiones de córnea y en biopsia de piel cabelluda de la región occipital (nuca), la cual es altamente inervada. Otros indicadores de infección por virus de la rabia son la demostración de un

aumento en cuatro veces el título de anticuerpos específicos en suero, en ausencia de vacunación o administración de inmunoglobulina antirrábica y la detección de anticuerpos antirrábicos en LCR, aún después de vacunación. Deben tomarse muestras repetidas veces tanto para detección de anticuerpos como antígenos, porque resultados negativos no descartan rabia. (26)

CONTROL: PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO

La prevención de la rabia humana tiene como base el control eficaz de la enfermedad en los animales domésticos y salvajes. El control de la rabia en los animales domésticos requiere de vacunación antirrábica canina y felina, control de población canina (planificación de la gestación y esterilización de hembras), saneamiento de perros y gatos a través de captura y control de foco cuando se haya confirmado por laboratorio uno o más casos de rabia. En humanos la prevención está basada en la promoción y educación sanitaria a la población y en la aplicación de medidas para la tenencia responsable de mascotas.

La exposición humana al virus de la rabia, es una emergencia y no debe retardarse o diferirse. La primera medida protectora es el tratamiento local de la herida mediante el lavado inmediato con agua y jabón, desinfectado con etanol 70% o yodo, seguida de la atención sanitaria para tratamiento post exposición (TPE)

La rabia es una de las pocas enfermedades en la cual la vacuna es efectiva cuando es administrada durante el período de incubación. La primera vacunación humana antirrábica fue realizada por Pasteur en 1885, quien obtuvo la Cepa Pasteur a partir de de pasajes sucesivos en cerebros de conejos de un virus rábico calle, lo que produjo un acortamiento y fijación del período de incubación en 6-7 días, denominándose a esta cepa “virus fijo”, otra característica para la obtención de la cepa vacunal es que la médula espinal infectada fue extraída y secada al aire a temperatura ambiente, con el fin de disminuir rápidamente la virulencia del virus mediante la desecación progresiva. Desde los tiempos de

Pasteur numerosas vacunas derivadas de tejido nervioso infectadas han sido desarrolladas y la más empleada ha sido la vacuna Fuenzalida-Palacios desarrollada en la década de 1950. Esta vacuna llamada también tipo CRL por su preparación a partir de Cerebro de Ratón Lactante fue perfeccionada posteriormente, y aún se usa hoy en día en varios países. El principal problema asociado a la vacuna tipo CRL son las reacciones neurológicas ocasionadas en 1 de cada 1000 (24.000) vacunados, probablemente por reacción autoinmune desencadenada por la mielina del cerebro de los ratones presentes en la vacuna. (21) (25)

Otros tipos de vacunas desarrolladas en embriones de pato también han sido utilizados, pero por su poca efectividad, su uso ha sido discontinuado.

Actualmente, la OPS/OMS recomienda el uso de vacunas producidas en cultivos celulares para el TPE, debido a su alta potencia (mayor concentración viral) y a sus menores reacciones adversas. La incidencia de reacciones neurológicas asociadas a estas vacunas es baja, 1 por cada 500.000 pacientes tratados. (20)

Todas las vacunas antes mencionadas son a “virus muerto inactivado” y pueden ser aplicados vía intramuscular (en adultos, área deltoidea del brazo y en niños en el área anterolateral del muslo) o intradérmica, según las recomendaciones de cada fabricante. Para la inmunización de animales silvestres (zorros) se utiliza vacunas a virus vivo atenuadas de uso oral. Están en etapa de estudios la aplicación de vacunas antirrábicas recombinantes. (20)

Otros biológicos empleados usualmente para el TPE de la rabia a través de la inmunización pasiva son el Suero antirrábico (SAR) heterólogo e Inmunoglobulina humana antirrábica (IGHAR). El SAR es preparado a partir de suero de animales (equinos y otros rumiantes) hiperinmunizados y la IGHAR es producida a partir de plasma de dadores previamente inmunizados. La eficacia

del suero antirrábico fue confirmada por Habel y Koprowsky en 1954, en dos grupos de pacientes mordidos por un lobo rabioso, un grupo fue tratado solo con vacuna y otro con suero y vacuna. (21)

También se han reportado el uso de anticuerpos monoclonales y últimamente se ha reportado la supervivencia de una paciente con rabia clínica, sin la administración de vacuna ni suero antirrábico, donde el tratamiento incluyó la inducción de coma mientras madura la inmunidad natural adquirida, utilizándose para tal efecto ketamina, midazolam, ribavirina, y amantadina.

La aplicación del Tratamiento post- exposición (TPE) depende del análisis de varios factores relacionados con el animal agresor, el área geográfica donde se produjo el accidente y la naturaleza de la exposición al virus rábico. (21)

Se aconseja la vacunación previa a la exposición en personas de alto riesgo de exposición al virus de la rabia como ser: personal de laboratorios de diagnóstico y producción de biológicos, veterinarios, vacunadores, entrenadores de canes, oficiales de fauna silvestre, exploradores (espeleólogos), y a viajeros a zonas con rabia endémica. Debe realizarse una evaluación serológica semestral o anual en el personal sometido a tratamiento pre- exposición para certificar protección (títulos de anticuerpos neutralizantes \geq de 0,5UI/ml.). (1)

3.2 VACUNAS ANTIRRÁBICAS

CONSIDERACIONES GENERALES

Se ha logrado un progreso considerable en la producción y empleo de las vacunas antirrábicas en el último decenio. Sin embargo, la disponibilidad de vacunas antirrábicas de un nivel elevado de inmuno-genicidad e inocuidad sigue siendo un objetivo no alcanzado aún en muchas regiones del mundo. Las vacunas preparadas en cultivos celulares deben reemplazar a las derivadas de tejido cerebral lo antes posible (21)

Es necesario que se imponga un estricto control de la calidad de las vacunas (“control durante el proceso”), y las autoridades nacionales de los respectivos países deben efectuar pruebas rigurosas de la inocuidad y actividad de los productos acabados. Cuando sea apropiado, se deben llevar a cabo pruebas serológicas en una muestra representativa de animales y de personas vacunadas, a fin de evaluar la inmuno-genicidad de la vacuna en el terreno. Todos los casos de rabia que ocurran en sujetos vacunados deben ser sometidos a una investigación exhaustiva: además de la ineficacia de la vacuna por no poseer la actividad requerida, deben ser consideradas como posibles causas de muerte las variantes de los virus rábicos y los virus relacionados con la rabia. (21)

Existe una necesidad urgente de reducir el costo de las vacunas derivadas de cultivo celular, tanto para uso veterinario como para uso médico. En los países en que la producción de vacunas mediante cultivo celular está en sus inicios, puede lograrse un ahorro considerable si se producen conjuntamente vacunas para uso veterinario y para uso médico. Con respecto a las vacunas para uso en animales, se necesitan vacunas para inmunizar a diversas especies de animales silvestres y perros. (21) (25)

Es necesario que las cepas víricas empleadas en la producción de vacunas antirrábicas sean cuidadosamente seleccionadas, y se deben efectuar controles periódicos para verificar la identidad antigénica de dichas cepas, como también la identidad y pureza de las líneas celulares utilizadas. Debe haberse comprobado que las cepas empleadas en la producción de las vacunas ofrecen protección contra las infecciones por los virus locales del terreno. Es importante que los Centros Colaboradores de la OMS sirvan como fuentes de provisión de vacunas de siembra, como laboratorios de referencia y para el examen de las cepas, y como medios de adiestramiento de personal en las técnicas de lucha antirrábica. (20)

EFFECTOS COLATERALES

Las vacunas elaboradas en base a cerebro de ratón lactante pueden producir:

Reacciones locales: Ninguno muy ocasionalmente: dolor, eritema, edema, prurito e induración en el sitio de inyección.

Reacciones generales: Rara Vez Fiebre moderada, escalofríos, malestar general, astenia, cefalea, mareo, artralgias, mialgias, alteraciones gastrointestinales (náuseas, dolor abdominal).

Excepcionalmente puede presentarse complicaciones como el síndrome de Guillain Barré, encefalitis desmielinizantes por el sustrato que se utiliza como materia prima (encéfalos de ratones lactantes), los riesgos son casi nulos porque se utilizan ratones de menor de 24 horas de vida los cuales están exentos de mielina y los procedimientos de purificación que se utilizan aseveran el mismo (27).

CONTRAINDICACIONES:

No tiene contraindicaciones, debido a que estas vacunas son inactivadas conteniendo partículas virales sin capacidad para multiplicarse, por lo cual es apta para administrarse durante el embarazo en el cualquier trimestre, así como en niños o personas con problemas neurológicos o de inmunosupresión. Dada la evolución mortal ineludible de la infección rábica declarada, la vacunación curativa no tiene contraindicaciones (28).

3.3 REQUISITOS DE POTENCIA

El Comité destacó la importancia de verificar la actividad de cada lote de vacuna antes de autorizarse su empleo. Las modernas vacunas antirrábicas de uso médico, sumamente purificadas, deben tener una actividad mínima, media por la prueba NIH, de 2,5 UI por dosis (16, 17). La actividad mínima de la vacuna de encéfalo de ratón lactante para uso humano debe ser de OMS recomienda como títulos de anticuerpos protectivos en suero un mínimo de 0,5 UI/, sea cual fuere

el número de dosis requeridas para el tratamiento post-exposición. El Comité recomendó asimismo que el Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos considere modificar las normas relacionadas con la vacuna antirrábica para la inoculación humana, en el sentido de que las autoridades nacionales de control puedan autorizar el empleo de vacunas cuya actividad sea inferior al mínimo recomendado, siempre que se haya comprobado que dichas vacunas provoquen en las personas un nivel apropiado de anticuerpos neutralizantes de virus. (1) (27)

3.4 PREVENCIÓN DE LA RABIA EN EL SER HUMANO

CONSIDERACIONES GENERALES:

En vista del índice de mortalidad extremadamente elevado con respecto a la rabia en el hombre, es sumamente importante prevenir la infección rábica después de la exposición. Se han logrado importantes progresos en la inocuidad y actividad de las vacunas antirrábicas. Como lo hiciera en su informe de 1983 (1), el Comité reiteró su apoyo a la tendencia de limitar o abandonar por completo, siempre que esto sea económica y técnicamente posible, la producción de vacunas de tejido cerebral que sean encefalo-litogénicas, y recomendó urgentemente la producción y empleo de vacunas antirrábicas de cultivo celular inactivadas, tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados. Después de la exposición, virtualmente puede asegurarse la prevención de la infección mediante el tratamiento inmediato de la herida, y la profilaxis post-infección con uno de los regímenes recomendados de inmunoglobulina antirrábica (RIG) y con vacunas de cultivo celular. Si no se dispone de vacuna antirrábica producida en cultivo celular, puede administrarse vacuna de tejido cerebral (de ser posible vacuna de cerebro de ratón lactante) que posea la actividad adecuada. Debido a que no existen aún vacunas de bajo costo para la inmunización en masa antes de la exposición, debe considerarse la inmunización preexposición individual para todas las personas en alto riesgo de exposición. (21)

3.5 INMUNIZACIÓN ANTES DE LA EXPOSICIÓN

Se indicarán en personas que no fueron mordidas, pero que corren riesgos elevados en razón de sus tareas profesionales: veterinarios, biólogos, laboratoristas o que estén en contacto con animales silvestres (incluyendo vampiros).

ESQUEMAS DE VACUNACION PREEXPOSICION.

- 1) Días de Inoculación 0, 7, 28 o 90
- 2) Días de Inoculación 0,2,4 o 10 (alternativo)

REVACUNACIÓN

Recomendaciones para personas que han recibido tratamiento pre o la exposición completa con vacuna CRL. (3)

Un paciente que ha recibido inmunización pre o post-exposición completa (tres o más dosis de vacuna antirrábica), ante una nueva exposición, NO DEBE recibir inmunoglobulina antirrábica. (20)

La revacunación depende del tiempo transcurrido entre el tratamiento completo recibido anteriormente (pre o post –exposición) y la nueva exposición que amerite tratamiento.

1. Si el período transcurrido es menor de tres meses a partir de la última dosis, debe aplicarse una dosis de vacuna.
2. Si este período es de tres meses a un año a partir de la última dosis:
 - a. En exposición leve, se debe aplicar una dosis de vacuna.
 - b. En exposición grave, se deben aplicar tres dosis de vacuna, una cada tercer día.

3. Si el período transcurrido es mayor de un año, en exposición leve se deben aplicar tres dosis de vacuna, una cada tercer día y en exposiciones graves, se debe repetir el esquema completo post-exposición anteriormente descrito.
4. Si por abandono u otra causa el paciente recibió una o dos dosis de vacuna, ante una nueva exposición que amerite tratamiento, debe recibir inmunización post –exposición completa.

CUIDADOS Y OBLIGACIONES DEL PERSONAL DE DIAGNOSTICO DE RABIA

Las medidas de precaución son importantes para cualquier persona que tenga contacto con animales o muestras contaminadas con el virus de la rabia.

Se ofrecen varias recomendaciones generales que se deben llevar a cabo para evitar desenlaces fatales. Podemos mencionar algunas:

- 1) El personal que labora en los centros de salud animal y que tiene contacto con animales, así como aquellas personas que trabajan en perreras, deben de recibir un tratamiento antirrábico preventivo, cuyo tiempo de inmunización dependerá de la vacuna.
- 2) Debe utilizarse ropa adecuada para trabajar (guantes, botas batas, cubre bocas o, en su caso, un overol en vez de bata).
- 3) La herramienta de trabajo (cuchillos, bisturí, pinzas, sierra) deben ser siempre los mismos.
- 4) Cuando se extrajo la muestra de un cadáver para su análisis, es necesario deshacerse de él incinerándolo; o si se trata sólo de un cerebro hay que eliminarlo después de algunos días, luego de confirmar su resultado.
- 5) Después de concluida la necropsia, debe procederse a la desinfección y lavado del material y herramientas usados, así como el área donde se trabajó (mesa y pisos).
- 6) Colocar la ropa de trabajo en un mismo sitio para evitar contaminaciones en otras secciones del laboratorio.

- 7) Por último, lavarse las manos; esta acción hay que hacerla también al principio.

3.6 MEDICION DE ANTICUERPOS ANTIRRÁBICOS

PRINCIPIO Y UTILIDAD DEL ENSAYO DE SERONEUTRALIZACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIRRÁBICOS

La prueba de neutralización del suero en ratones es un procedimiento serológico que se utiliza para determinar si una persona o un animal están protegidos contra la rabia. Este método determina la cantidad de anticuerpos presentes en el suero y se basa en la neutralización de una serie de diluciones de suero con una dosis constante de un virus de desafío previamente titulado. Los resultados son expresados en términos de títulos serológicos, definidos como la dilución más elevada que neutraliza una cantidad estándar de virus (26).

3.7 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA TÉCNICA SERONEUTRALIZACIÓN.

PRUEBA DE SERONEUTRALIZACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIRRÁBICOS.

PRINCIPIO Y UTILIDAD

La prueba de neutralización del suero en ratones es un procedimiento serológico que se utiliza para determinar si una persona o un animal están protegido contra la rabia.

Este método determina la cantidad de anticuerpos presentes en el suero y se basa en la neutralización de una serie de diluciones de suero con una dosis constante de un virus de desafío previamente titulado. Los resultados son expresados en términos de títulos serológicos definidos como la dilución más elevada que neutraliza una cantidad estándar de virus. (26)

El método comprende tres etapas:

- Preparación y titulación del virus desafío (CVS)
- Sero-neutralización del virus: preparación del suero y las mezclas suero-virus e inoculación en ratones
- Interpretación de resultados

ANIMALES DE LABORATORIO

Se utilizan ratones albinos suizos, de 21 días y de 11 a 14 g de peso. Se deben tener las mismas consideraciones mencionadas acerca de los ratones en la prueba de inoculación de ratón.

MATERIALES Y EQUIPOS

Jaulas de ratones de metal o polipropileno con sus respectivas rejillas

Suero de referencia internacional

Suero problema

PROCEDIMIENTO

El principio de la titulación consiste en realizar una serie de diluciones del virus para poder establecer en que dilución se encuentra la dosis que produce un 50% de mortalidad de los ratones inoculados.

El virus CVS se conserva en forma de suspensión al 20%, distribuida en ampollas y congeladas a temperatura baja. Cuando se va a realizar la prueba, se toma una ampolla y se descongela rápidamente bajo chorro de agua fría de caño.

Cálculo de las dosis de desafío

Suponiendo que la cepa CVS contiene $10^{6,0}$ DL₅₀ por 0,03, es decir, existe una dosis letal 50 en 0,03 ml de una dilución de $10^{-6,0}$ del virus CVS, con sueros de personas vacunadas se emplearán diluciones de sueros a partir de 1/5, 1/25 y 1/125 y la dilución final de virus corresponderá a 20 - 50 DL₅₀.

Por ejemplo, para encontrar la dilución de CVS que contenga 64 DL en 0,03 ml, se resta el logaritmo de 64 del título de la preparación del virus CVS ($10^{6,0}$):

$$\begin{aligned} 64 \text{ DL}_{50} \text{ de virus en } 0,03 \text{ ml} &= \log (10^{6,0}) - \log (64) \\ &= 6,0 - 1,8 \\ &= 4,2 \end{aligned}$$

Como $4,2 = \log 16\ 000$, consecuentemente la preparación de CVS habrá de diluirse al 1:16 000. Sin embargo, al iniciar las diluciones se debe tener en cuenta que el CVS viene de una suspensión al 20%, esto quiere decir que ya tiene una dilución inicial que equivale a $10^{-0,7}$ (una dilución al 20% es igual a 1/5 y el logaritmo de 5 es 0,7). Entonces, desde esta dilución de $10^{-0,7}$ se tiene que llegar a la dilución de

$10^{-4,2}$. Las diluciones se van haciendo desde $10^{-0,7}$ hasta $10^{-3,7}$ en progresión decimal ya para pasar de

a $10^{-3,7}$ a dilución $10^{-4,2}$ se restan los logaritmos de la siguiente manera:

$$4,2 - 3,7 = 0,5$$

De manera inversa se obtiene el antilogaritmo de $0,5 = 3,16$, el que se redondea a 3. Esto quiere decir que se necesita hacer una dilución de 1:3 para pasar de $-3,7$ a $-4,2$. Hecho esto, se realiza tres diluciones más ($10^{-5,2}$, $10^{-6,2}$, $10^{-7,2}$) para poder realizar la titulación simultánea de comprobación de las dosis letales utilizadas.

Preparación y titulación del virus de desafío CVS

Calcular la cantidad de CVS conteniendo las 64 DL_{50} que se necesita de acuerdo al número de sueros problema que tenga.

11.4.2.2 De acuerdo a la dilución que contendrá 64 DL_{50} (para este caso la dilución $10^{4,2}$), rotular los tubos 12x75 mm con $10^{-1,7}$, $10^{-2,7}$, $10^{-3,7}$, $10^{-4,2}$, $10^{-5,2}$, $10^{-6,2}$ y $10^{-7,2}$

Distribuir 2,7 ml de diluyente en los tubos rotulados, a excepción del tubo $10^{-4,2}$ al que se le colocará 2,0 ml.

Tomar 0,3 ml de la ampolla de CVS recién descongelada y colocarla en el primer tubo $10^{1,7}$ homogenizar y descartar el tip. Continuar de la misma manera con los tubos $10^{-2,7}$ y $10^{-3,7}$.

Tomar 1,0 ml del tubo $10^{-3,7}$ y colocarlo en el $10^{-4,2}$, homogenizar y descartar el tip.

Tomar 0,3 ml del $10^{-4,2}$ y pasar al $10^{-5,2}$, homogenizar y descartar el tip. Realizar el mismo procedimiento con el tubo de $10^{-6,2}$ y $10^{-7,2}$.

Dilución del suero problema

Inactivar los sueros a $56^{\circ}C$ por 30 minutos en Baño María.

Preparar una dilución 1/2,5 del suero de referencia internacional, añadiendo 0,2 ml del suero a 0,3 del diluyente.

Preparar diluciones al quinto con el suero de referencia a partir de la dilución 1:2,5, hasta la dilución 1:312,5, transfiriendo 0,2 ml de cada dilución a 0,8 ml de diluyente (2% de suero equino en agua destilada).

Mezcla suero virus

Rotular cuatro tubos 12x75 mm con 1/5, 1/25, 1/125 y 1/625 suero de referencia internacional + 32

DL₅₀.

Rotular cuatro tubos 12x75 mm con 1/5, 1/25, 1/125 y 1/625 suero problema + 32 DL₅₀.

Combinar 0,2 ml del tubo que contiene 64 DL₅₀ (en este caso 10^{-4,2}) con cada dilución de los sueros problema y del suero de referencia internacional que contenga 0,2 ml, logrando reducir a 32 dosis letales efectivas.

Rotular cuatro tubos 12x75 mm: 32 DL₅₀, 3.2 DL₅₀, 0,32 DL₅₀, 0,032 DL₅₀.

Tomar de cada dilución 10^{-4,2}, 10^{-5,2}, 10^{-6,2} y 10^{-7,2} 0,2ml y combinarlo con 0,2 ml de diluyente conteniendo 20% de suero equino.

Incubar en baño María a 37°C por 90 minutos

Retirar y colocarlas en una bandeja con hielo

Inoculación en ratones

Colocar una etiqueta en cada jaula correspondiente a cada mezcla de suero virus.

Inocular 6 ratones por dilución con 0,03 ml de cada mezcla suero-virus intracranealmente en ratones de 21 días de edad.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Anotar el número de ratones muertos entre los días 6 y 14 de la inoculación.

Utilizar la fórmula de Reed-Meunch para calcular el punto final del 50% de mortalidad de las diluciones de virus. Esta titulación indicará si las dosis letales utilizadas fueron las correctas.

Calcular el punto final del 50% con la fórmula de Reed-Meunch del suero de referencia internacional y los sueros problema. El Comité de Expertos de la OMS sobre rabia indica la necesidad de recibir inmunización de refuerzos cuando el título baja de 0,5 UI/ml.

MANTENIMIENTO DE RATONES EN EL LABORATORIO (26)

OBJETIVO

Establecer y uniformizar los procedimientos de cuidado y alimentación de los ratones que se utilizan para el diagnóstico del virus rábico.

CAMPO DE APLICACIÓN

Comprende el mantenimiento de ratones albinos suizos inoculados en el Laboratorio de Rabia

MATERIALES Y EQUIPOS

Alimento balanceado especial para ratones

Viruta estéril

Pinza simple de 20 cm

Biberones

Jaulas limpias

Recipiente con bolsa auto-lavable

Mascarilla 3M

Balde hermético

Cloroformo

Espátula

MÉTODO DE REED Y MUENCH

REQUISITOS PARA UTILIZAR EL MÉTODO DE REED Y MUENCH

- Número constante de animales por dilución
- Factor dilución constante

- Serie de diluciones que abarquen el 100% y 0% de animales positivos
- Ausencia de muertes accidentales (si estas muertes se dará preferencia al método de Spearman-Karber).

En el método de Reed y Muench, el punto de partida para el cálculo de las diluciones finales del 50% es la dilución que produce una mortalidad inmediatamente inferior al 50% (“dilución de partida”). Para determinar la diferencia entre el logaritmo de la dilución de partida y el logaritmo de la dilución final al 50% (diferencia de logaritmos) se utiliza una fórmula. Si la mortalidad disminuye cuando la dilución aumenta (como sucede en las titulaciones de virus rábico), la dilución final del 50% será inferior a la dilución de partida. En consecuencia, la “diferencia de logaritmos” ha de sustraerse del logaritmo recíproco de la dilución de partida. Por el contrario, la “diferencia de logaritmos” tiene que sumarse si la mortalidad se incrementa con el aumento de las diluciones. Esa diferencia, que aparece ilustrada en los siguientes ejemplos, debe tenerse en cuenta al efectuar los cálculos. (26)

EJEMPLO DE LA TITULACIÓN DE UNA SUSPENSIÓN DEL VIRUS

Dilución del virus	Ratones		Acumulado		total	Mortalidad
	Vivos	Muertos	Vivos	Muertos		%
10 ⁻⁵	0	10	0	17	17	17/17 =100
10 ⁻⁶	4	6	4	7	7	7/11 =64
10 ⁻⁷	9	1	13	1	1	1/14 =7

Fuente: López Ingunza. *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA RABIA*. (Serie de Normas Técnicas; 31. Lima: Ministerio de Salud- Instituto Nacional de Salud; 2002.

Se acumulan los totales de 10^{-5} a 10^{-7} para los animales supervivientes y de 10^{-7} a 10^{-5} para los ratones que se consideran por rabia.

En el presente ejemplo el factor de dilución es 10 y la dilución de partida (con una mortalidad inmediatamente inferior al 50%) es 10^{-7} .

La diferencia de logaritmos se calcula con la fórmula:

$$\frac{50\% - \text{mortalidad inferior}}{\text{Mortalidad superior al 50\%} - \text{mortalidad inferior al 50\%}} \times \text{factor de dilucion}$$

Según el ejemplo:

$$\frac{50 - 7}{64 - 7} \times 1$$

Teniendo en cuenta que en este ejemplo la mortalidad disminuye al aumentar la dilución, la última dilución positiva al 50% es inferior a la dilución de partida y para el cálculo se sustrae la diferencia de logaritmos del siguiente modo:

$$\begin{aligned} \text{Log (recíproco de la dilución final del 50\%)} &= \text{log (recíproco de la dilución de} \\ &\text{partida) - diferencia de logaritmos} \\ &= \text{log } 10^{-7} - 0,75 \\ \text{Log (dilución final del 50\%)} &= 6,25 \\ \text{De aquí, título DL}_{50} &= 10^{-6,25} \end{aligned}$$

EJEMPLO DE LA TITULACIÓN DE UN SUERO ANTIRRÁBICO

Supóngase que un protocolo típico de titulación de un suero antirrábico da los siguientes resultados:

Dilución del virus	Ratones		Acumulado		Mortalidad
	Supervivientes	Muertos	Supervivientes	Muertos	%
$10^{-2,7}$ (1:500)	5	0	11	0	0/11 =0
10^{-3} (1:1000)	4	1	6	1	1/7 =14
$10^{-3,3}$ (1:2000)	1	4	2	5	5/7 =71
$10^{-3,6}$ (1:4000)	1	4	1	9	9/10 =90
$10^{-3,9}$ (1:8000)	0	5	0	14	14/14 =100

Fuente: López Ingunza. *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA RABIA*. (Serie de Normas Técnicas; 31. Lima: Ministerio de Salud- Instituto Nacional de Salud; 2002.

En este ejemplo, el factor de dilución es 2 y la dilución de partida (mortalidad inferior al 50%) es 10^{-3} . Con la misma fórmula del ejemplo anterior, la “diferencia de logaritmos” es:

$$\frac{50 - 14}{71 - 14} \times 0,301 = 0,19$$

Como en este caso la mortalidad aumenta con la dilución, la dilución final del 50% será más elevada que la dilución de partida y para calcular se sumará la “diferencia de logaritmos” del siguiente modo:

$$\begin{aligned} \text{Log (recíproco de la dilución final del 50\%)} &= \text{log (recíproco de la dilución de} \\ &\text{partida) + diferencia de log} \\ &= 3 + 0,19 \\ &= 3,2 \text{ (aprox.)} \\ \text{De aquí, log de la dilución final del 50\%} &= -3,2 \\ &= 10^{-3,2} \end{aligned}$$

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La rabia causa miles de muertes cada año en más de 100 países y es frecuente en las comunidades desatendidas con escaso acceso a los servicios sanitarios y veterinarios (20). El éxito de los programas de lucha antirrábica se basa en tres pilares: la participación comunitaria; la educación, la concienciación de la población y el acceso a la vacunación canina masiva; y el acceso al tratamiento tras sufrir una mordedura (3).

Los países están trabajando para lograr que para 2030 no haya ninguna muerte humana por rabia, e intensificando su respuesta para relegar esta enfermedad a los libros de historia (28).

La rabia afecta a animales domésticos y salvajes y, normalmente, se transmite a las personas a través de la saliva, por mordeduras y arañazos. Los primeros síntomas que aparecen son fiebre y, a menudo, dolor y sensación de hormigueo alrededor de la herida. El lavado a fondo de la herida y la vacunación en las horas que siguen a la mordedura pueden evitar que aparezca la enfermedad (4).

La inmunización antes de la exposición se precisa en personas de alto riesgo, por ejemplo, personas que trabajan en un laboratorio donde se manipula el virus de la rabia, los manipuladores de animales, los médicos, veterinarios y otros (3).

La presencia de anticuerpos neutralizantes en el suero de personas o animales que han recibido vacunación antirrábica se relaciona con la protección contra la enfermedad, por esta razón, su determinación es de gran utilidad para la evaluación del estado inmune del personal de riesgo, de los individuos previamente vacunados (1).

El comité de expertos de la OMS, ha establecido que las personas que trabajan con virus rábico vivo en un laboratorio de diagnóstico investigación o producción, deben realizarse pruebas serológicas cada 6 meses a 1 año, que permitan determinar la existencia de estos anticuerpos. Todas aquellas no expuestas a

riesgo continuo, deben realizarse estos exámenes cada año. Los efectos secundarios más comunes tras la vacunación son leves; entre ellos se incluyen: Dolor, inflamación o enrojecimiento donde se ha administrado la vacuna, fiebre, leve, escalofrío, cansancio, dolor de cabeza, dolor muscular y articular. (3)

En aquellas personas que llevan varios años recibiendo esta, el título fue superior, pero la re-inmunización anual ha sido cuestionada por diferentes autores, entre ellos Smith, (28) quien plantea que en aquellas personas donde el nivel de anticuerpos se mantiene estable durante años, no es necesario la aplicación de una reactivación cada año.

Otros consideran que mientras se emplee la vacuna de tejido nervioso es necesaria la aplicación de la reactivación anual por su poca potencia.

Hasta el momento no se han realizado estudios para conocer la eficacia de la Vacuna producida por la Institución en el personal continuamente expuesto al virus de la Rabia.

En ese sentido se plantea la siguiente pregunta de investigación.

4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una relación entre la vacuna que produce el INLASA aplicada de forma recurrente y/o intermitente al personal del Laboratorio de inmunobiológicos (INLASA) y la inmunidad al virus de la rabia?

V. HIPOTESIS

Hay una relación entre la vacuna aplicada de forma recurrente y la inmunidad al virus de la rabia (hipótesis alternativa).

VI. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe relación entre la vacuna aplicada de forma recurrente al personal de INLASA y la inmunidad al virus de la rabia

6.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Describir los antecedentes de Vacunación en relación a la última dosis que se le administró Vacuna Antirrábica del personal involucrado en el estudio.
2. Determinar la influencia en el grado de protección en las personas tomando en cuenta la edad, el sexo, estado nutricional, patología de base y tiempo entre la última vacunación.
3. Establecer la relación entre título de anticuerpos antirrábicos y tiempo de vacunación (esquema completo).

VII. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

7.1 TIPO DE ESTUDIO

Cuantitativo, de corte transversal (observacional), analítico y correlacional

Definición estudio cuantitativo. - La investigación cuantitativa es un método estructurado de recopilación y análisis de información que se obtiene a través de diversas fuentes. Este proceso se lleva a cabo con el uso de herramientas estadísticas y matemáticas con el propósito de cuantificar el problema de investigación. (29)

Definición investigación corte transversal. - El estudio transversal se define como un tipo de investigación observacional que analiza datos de variables recopiladas en un periodo de tiempo sobre una población muestra o subconjunto predefinido. Este tipo de estudio también se conoce como estudio de corte transversal, estudio transversal y estudio de prevalencia (29)

Definición investigación Analítico. - Se caracterizan porque pretenden “descubrir” una hipotética relación entre algún factor de riesgo y un determinado efecto, es decir, pretenden establecer una relación causal entre dos fenómenos naturales. (29)

Definición investigación Correlacional. - “La Investigación Correlacional es un tipo de estudio que tiene como propósito evaluar la relación que exista entre dos o más conceptos, categorías o variables (en un contexto en particular). ... Tales correlaciones se expresan en hipótesis sometidas a prueba” (29)

POBLACIÓN

Funcionarios del laboratorio de Producción de Biológicos y Bioterio que ascienden a 30 personas, que tienen las siguientes características:

Cuadro 1. Características de los funcionarios del Laboratorio Producción de Biológicos y Bioterio según edad, sexo, ultima dosis recibida y total de número de dosis de Vacuna antirrábica administrada.

VARIABLE	DETALLE	PERSONAS	PORCENTAJE
EDAD	Mayor a 55 años	4	13,6 %
	De 22 a 54 años	26	86,6 %
SEXO	Masculino	12	40 %
	Femenino	18	60 %
DOSIS ULTIMA	De 0 a 6 meses	11	36,6 %
	De 6 meses a 1 año	7	23,3 %
	Mayor 1 año	12	40 %
CANTIDAD TOTAL DE DOSIS ADMINISTRADAS	De 0 a 5 dosis	12	40 %
	De 6 a 10 dosis	11	36,6 %
	De 11 a 15 dosis	5	16,6 %
	Mayor a 16 dosis	2	6,6 %
IMC	Normal	3	10 %
	Sobrepeso	25	83 %
	Obesidad I	2	6,6 %
PRESENCIA DE PATOLOGÍA DE BASE	Hipotiroidismo	1	50 %
	Diabetes y Obesidad	1	50 %

Fuente: Personal Laboratorio de Producción de Biológicos año 2020

7.2 MUESTRA.

Se trabajó con las 30 personas que trabajan en laboratorios de producción de Vacunas, es decir con toda la población.

7.3 DISEÑO METODOLÓGICO.

La presente investigación. Es un estudio cuantitativo con un universo constituido por 30 personas que trabajan en el Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA) previamente vacunado y que están en riesgo de contraer la enfermedad por manipular de forma directa o indirecta con el virus de la rabia, a las mismas se le tomará una muestra de sangre de 10 ml y posteriormente se cuantificará la titulación de anticuerpos antirrábicos, para la misma se realizó la técnica de sero-neutralización, posteriormente se determinará la relación entre el tiempo de la última administración de Vacuna y el título de anticuerpos antirrábicos en el Instituto Nacional de Laboratorios en salud (INLASA).

7.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Persona previamente vacunada
- Consiente participar de la investigación de forma informada (Firma consentimiento informado.)
- Que gocen de salud en el momento de extracción de la muestra
- Se encuentre en su domicilio o acuda al laboratorio el momento de recolección de la muestra

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Aquel que no cumpla con los de inclusión
- Embarazadas
- Personas con tratamiento de corticoides al momento de la toma de muestras

7.5 CUADRO DE VARIABLES –

OBJETIVO ESPECIFICOS	VARIABLE	DEFINICIÓN	UNIDAD / CATEGORIA	TIPO DE VARIABLE
OE3	Inmunidad	Formación de anticuerpos neutralizantes	≥ 5 UI, tiene inmunidad < 5 UI, no tiene inmunidad	Cualitativa
OE2	Edad	Años cumplidos a la fecha de realización de la prueba	Años	Cuantitativa
OE2	Edad agrupada	Años agrupados	22 a 55, mayor a 55 Años agrupados	Cualitativa
OE2	Sexo	Según sexo biológico de pertenencia	Hombre Mujer	Cualitativa
OE1	Tiempo de ultima administración de Vacuna Antirrábica agrupados	Fecha de administración de ultima dosis de Refuerzo (Vacuna Antirrábica)	≤ 6 meses, ≤ 12 meses, ≤ 24 meses y ≥ 24 meses	Cualitativa ordinal
OE1	Número de dosis aplicadas	Dosis aplicadas previamente	Valores discretos	Cuantitativa Discreta
OE1	Tiempo en años	Años cumplidos a la fecha de realización de la prueba	Valores discretos	Cuantitativa Discreta

OE1	Tiempo en años agrupados que recibe vacuna (historial)	Años	1-5, 6-10, 11-15, mayor a 16.	Cualitativa ordinal
OE2	Estado nutricional medido	Medido a través del IMC	Normal Sobrepeso Obesidad I Obesidad II Obesidad III	Cualitativa ordinal
OE2	Presencia de patología de base	Según sus antecedentes médicos	SI NO	Cualitativa nominal dicotómica

7.6 INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

Hoja de recolección de datos (Ver ANEXO 1)

Hoja de toma de muestra (Ver ANEXO 4)

Técnica de sero-neutralización para la medición de anticuerpos TRABAJO DE CAMPO

Análisis de laboratorio

Las muestras de sangre se analizarán en el Laboratorio de Producción de Vacuna (INLASA). Se analizarán los sueros mediante la técnica Sero-neutralización. Para el ensayo cuantitativo, se estableció una curva normal para la titulación del suero normal antirrábico expresado en unidades internacionales por mililitro (IU/ml). Los sueros con títulos de anticuerpos igual o mayor a 0,5 UI/ml (Unidades Internacionales) fueron considerados protegidos.

Descripción de método:

Se seleccionarán a 30 personas que hayan sido previamente Vacunadas contra el virus de la rabia con la Vacuna que produce el INLASA, las mismas trabajan en áreas donde se manipula el virus de la rabia (personal en riesgo).

La vacuna antirrábica que se utilizará es la elaborada en el Laboratorio de Producción de Biológicos de Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA) tipo Fuenzalida-Palacios (CRL) en una concentración al 2% en dosis de 1 ml.

Este Biológico que es una suspensión de cerebro de ratón lactante en el que ha sido infectado con una cepa de virus rábico CVS, esta cepa adaptada a laboratorio, la cual es inactivada por luz ultravioleta, con una titulación antigénica de $10^{6,0} \text{ DL}_{50}$.

Para determinar el nivel inmunológico de los funcionarios, se tomarán muestras de sangre por única vez en el Laboratorio de Producción de Biológicos.

La técnica que se utilizará (seroneutralización) cuantifica la cantidad de anticuerpos neutralizantes en el suero de los pacientes en estudio. Es un procedimiento serológico que se utiliza para determinar si una persona o un

animal están protegido contra la rabia y se basa en la neutralización de una serie de diluciones de suero con una dosis constante de un virus de desafío previamente titulado. Los resultados son expresados en términos de títulos serológicos definidos como la dilución más elevada que neutraliza una cantidad estándar de virus.

El método comprende tres etapas:

- Preparación y titulación del virus desafío (CVS)
- Sero-neutralización del virus: preparación del suero y las mezclas suero-virus e inoculación en ratones
- Interpretación de resultados

PROCEDIMIENTOS

Tipo de muestra.

La forma de selección de la muestra para este estudio es de tipo no probabilístico ya que depende del proceso de toma de decisión del investigador.

La muestra para el presente estudio fue la totalidad de funcionarios que están en riesgo de contraer rabia ya que de forma directa o indirecta están en relación con el virus de la rabia, que posteriormente fueron introducidos a la base de datos del SPSS.

Recolección de datos:

Se realizó un formulario de recolección de datos ya que todo el personal en estudio debe participar en dicha prueba, ya que de la misma sabremos quienes tienen inmunidad al virus de la rabia y quienes no lo tienen. Inicialmente se realizaron cartas al responsable del Laboratorio de la división de inmunobiológicos, solicitando la autorización para poder realizar dicho estudio

Una vez obtenido el permiso se inició el trabajo:

De inicio se realizó un cronograma de recolección de datos. Posteriormente en grupos de 3 o 4 personas se procedió a la recolección de los datos cuyo detalle se describe en el ANEXO 1. Los mismos se vacían los datos al SPSS con para

la clasificación según la lista corta de enfermedades, con la cual se logra construir las respectivas tablas y gráficas para ser analizados.

Plan de Análisis

Para la cuantificación de anticuerpos en los sueros de las personas en estudio se utilizó la prueba de seroneutralización, prueba avalada a nivel internacional y estandarizada en el Laboratorio con resultados satisfactorios.

Se utilizó la Guía Manual de Procedimientos para el Diagnóstico de la Rabia Serie de Normas Técnicas N° 31 Lima - 2002 (26)

Se introdujeron los datos en el paquete estadístico SPSS, asimismo se realizó una revisión de consistencia, de los mismos antes de que estos sean procesados. Para el procesamiento y análisis de estos datos se utilizarán pruebas estadísticas (paquete informático SPSS y Microsoft Excel)

7.7 ASPECTOS ÉTICOS

Se consideraron los siguientes aspectos éticos:

Consentimiento informado. Se define como la aceptación libre por parte de una paciente de un acto diagnóstico o terapéutico después de haberle comunicado adecuadamente su situación clínica. (Anexo 3)

No Maleficencia, confidencialidad y anonimato. El principio de no-maleficencia hace referencia a la obligación de no infringir daño intencionadamente. Este principio se inscribe en la tradición de la máxima clásica *primum non nocere* («lo primero no dañar»). "Anonimato" vendría a ser omitir la identidad de la persona de la que se trate, porque no se conoce o porque se quiere ocultar. Confidencial, en cambio, es un asunto que se "hace o se dice en confianza, o con seguridad recíproca entre dos o más personas". Encuesta sobre: "Evaluación de la inmunidad al virus de la rabia en el personal de Salud previamente vacunado del INLASA área de producción de inmuno-biológicos gestión 2020", en la que se detalló los factores sociodemográficos, determinantes ambientales y laborales. **(Anexo 2)**

Consentimiento informado, a cada paciente y la condición voluntaria sobre su participación con la respectiva firma de aceptación. **(Anexo 3)**

Descripción y Procedimiento detallado de la extracción de sangre con la socialización a los participantes. **(anexo 4)**

Permiso al jefe del Laboratorio de Producción de Biológicos ya que esta investigación es de vital importancia para determinar el riesgo de la infección viral, así como revisar las medidas inmediatas encaminadas al control rápido y efectivo de la enfermedad **(anexo 5)**.

VIII. RESULTADOS.

1.- Los resultados del Objetivo General (OG) y Objetivo específico 3 (OE3)

De las 30 muestras analizadas, 22 personas (73.3 %) presentaron títulos de anticuerpos superiores a 0.5 UI/ mL, indicando un nivel de protección aceptable según la OMS. (Figura 1). El restante 8 personas (26.6 %), no tienen títulos con niveles de protección (mayores o igual a 0.5 UI/ mL); De las 8 personas que no tuvieron protección 4 personas presentaron titulación (>4 UI/ mL- $5 < \text{UI/ mL}$), 3 personas tuvieron anticuerpos inferiores a 4 y en 1 persona no se detectaron niveles de anticuerpos antirrábicos (0 UI/ mL). Fig.1

Figura 1: Distribución porcentual de protección al virus de la rabia en la población estudiada INLASA, 2021



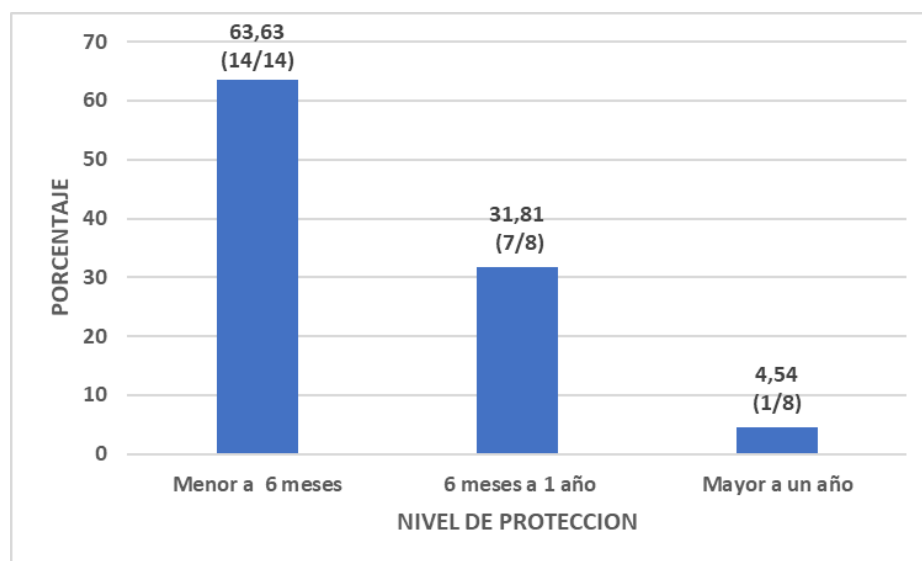
Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

2.- Los resultados del OE1 y OE3:

En cuanto al grado de protección según tiempo de vacunación, se pudo observar que las personas con vacunación reciente (menor a 6 meses) las 14 personas mostraron un 63,63 % (14/14) de protección. Entre 6 meses y 1 año de vacunación de un total de 8 personas el 31,81% (7 personas de ocho) presentaron protección solo un paciente no estaba protegido (12.5 %). Y con más de 1 año de vacunación que corresponden a 8 personas solo 1 persona (4,54%) presentó protección (>5 UI/ mL) y los restantes 7 (87.5%) estaban desprotegidos. (Figura 2).

Se observó que es mayor la cantidad de anticuerpos a menor tiempo de vacunación. Ya que las personas que recibieron Vacuna antirrábica con esquema completo o refuerzo RECIENTE (menor a 1 año) tuvieron mayor cantidad de anticuerpos a diferencia de las personas que recibieron el biológico hace 1 o más años. Fig. 2

Figura 2. Distribución porcentual de Protección al virus de la rabia según el tiempo de última dosis administrada



Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

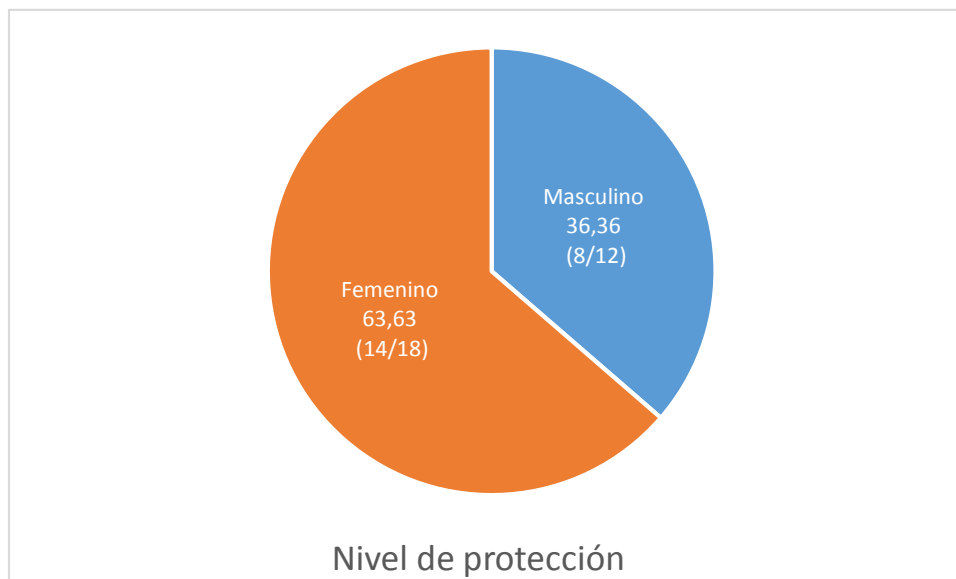
A efectos, de probar si la protección al virus, mediante la vacunación, está relacionado con la rabia, se realizó una prueba Chi cuadrado, la cual encontró que existe relación entre, el tiempo de administración de la última dosis entre las personas que recibieron una dosis antes de los 6 meses y después de los 6 meses al año a un nivel de significancia del 5%.

El p valor de significancia ($p= 0,364$), el detalle de los cuadros se encuentra en el anexo No. 6

3.- Los resultados del OE2 y OE3

En relación al sexo su pudo determinar que de las 30 personas 12 son del sexo masculino y 18 del femenino de las cuales en 22 personas tuvieron un nivel de protección satisfactorio entre las cuales 8 personas son del sexo masculino y 14 del femenino. Fig. 3

Figura 3. Distribución porcentual de Protección al virus de la rabia según el sexo (12M/18F)



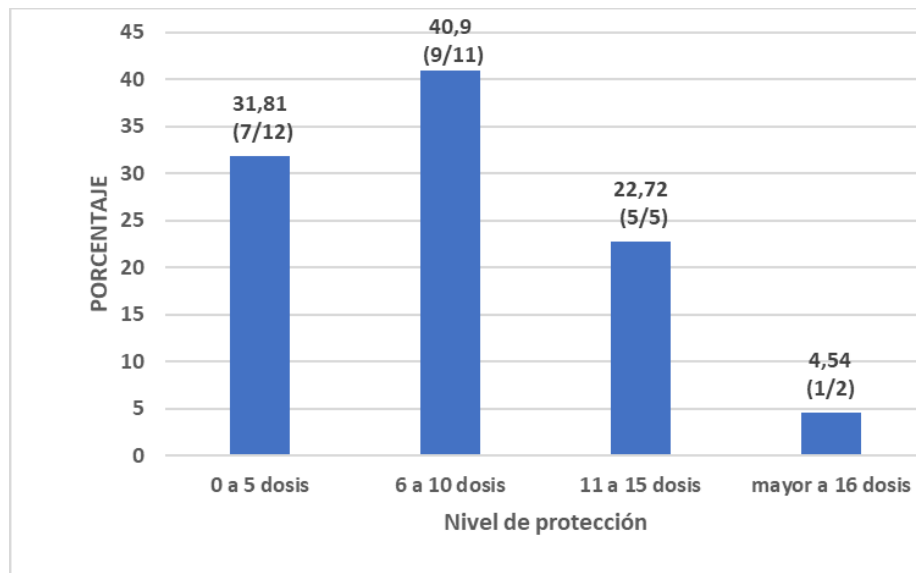
Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

4.- Los resultados del OE1 y OE3

En relación al número total de dosis de vacuna que recibió cada persona esto incluye accidentes de trabajo (inoculación accidental con el virus de la rabia y refuerzos de vacuna de forma anual

Se pudo observar que de las 30 personas que participaron en el estudio 12 personas recibieron de 0 a 5 dosis de los cuales 7 están protegidos (31,81 %) y 5 no lo están , los que recibieron de 6 a 10 dosis son 11 personas de ellos 9 están protegidos (40,9 %) y dos no lo están , los que recibieron 11 a 15 dosis que corresponde a 5 personas las personas están protegidas 22.72 % (5/5) y finalmente los que recibieron mayor a 15 dosis fueron 2 personas de las cuales 1 está protegido el otro no. Fig.4

Figura 4. Distribución porcentual de Protección al virus de la rabia según el número total de dosis administradas desde el ingreso a la institución



Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

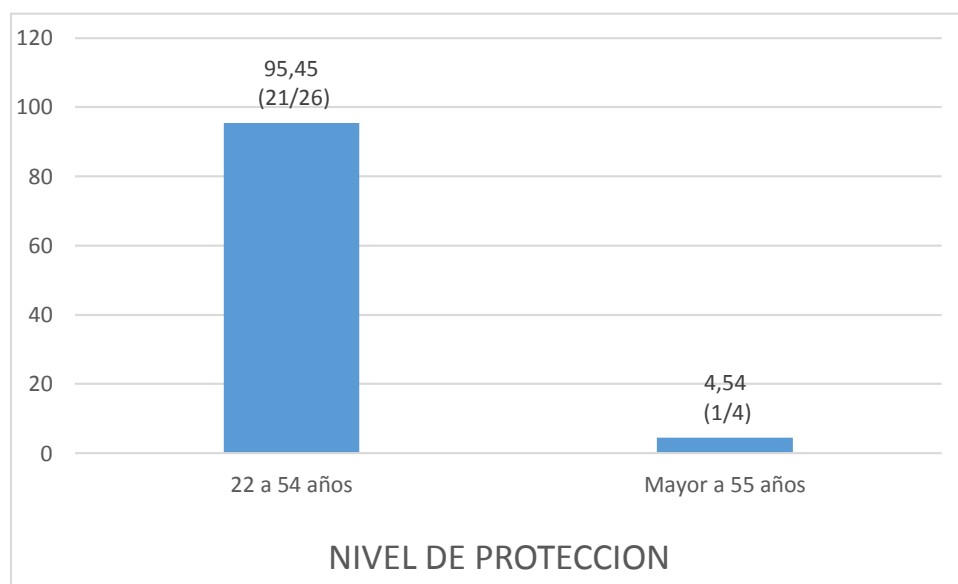
A efectos de probar si la protección al virus mediante la vacunación, está relacionado con la rabia, se realizó una prueba Chi cuadrado, la cual encontró que existe relación entre, la cantidad total de dosis de Vacuna Administrada de 0 a 5 dosis entre 11 a 15 dosis con un nivel de significancia del 5%.

El p valor de significancia ($p= 0,128$), el detalle de los cuadros se encuentra en el anexo No. 7

5.- Los resultados del OE2 y OE3

En relación a la edad se puede describir que de las 30 personas que participaron en el estudio 4 personas son mayores a 55 años y 26 personas comprenden de 22 a 54 años, Entre las personas que tuvieron un nivel de protección superior a 0,5 UI son 22 personas de las cuales 21 personas son de menores 55 años y solamente 1 persona mayor de 55 años muestra protección de los 4 que participaron en el estudio. Fig. 5

Figura 5. Distribución porcentual de Protección al virus de la rabia según la edad (4M55)26menor

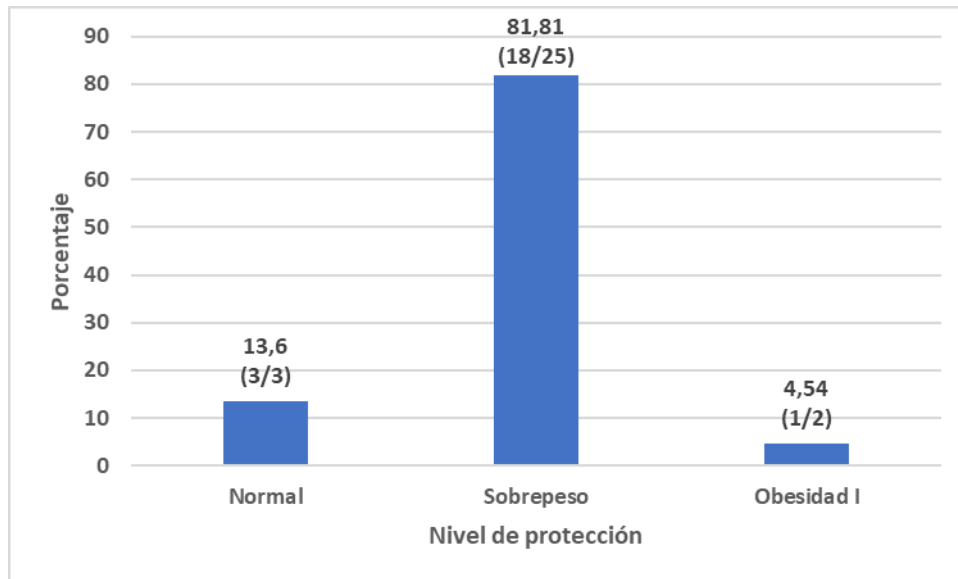


Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

Los resultados del OE2 y OE3

La distribución según el índice de masa corporal se pudo apreciar que en el 13,6 % de personas que tienen un IMC normal está con protección, un 81.81 % (18/25) en sobrepeso y solo el 4,54 % (1/2) en Obesidad I. Cabe mencionar que del total de participantes solo 3 tienen IMC normal, 25 están con sobrepeso y solo 2 personas tienen obesidad tipo I. Fig. 6

Figura 6. Distribución porcentual de Protección al virus de la rabia según el Índice de masa corporal (IMC)



Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

A efectos de probar si la protección al virus mediante la vacunación, está relacionado con la rabia, se realizó una prueba Chi cuadrado, la cual encontró que existe relación entre, el Índice de masa corporal (IMC) normal, sobrepeso y obesidad tipo I en el 100% de personas que participaron en el estudio con un nivel de significancia del 5%.

El p valor de significancia ($p= 0,219$), el detalle de los cuadros se encuentra en el anexo No. 8

6.- Los resultados del OE2 y OE3

En cuanto a las enfermedades de base y el grado de protección al virus de la rabia se puede observar que de las 2 personas con enfermedades de base 1 está protegido con el valor mínimo aceptable de 5 UI y el otro no está protegido teniendo un valor de 4 UI. Cuadro 1

CUADRO 1 RESULTADOS DE PERSONAS CON ENFERMEDAD DE BASE

PACIENTE/SEXO	PATOLOGÍA DE BASE	FECHA DE ULTIMA DOSIS DE VACUNA	RESULTADO
MASCULINO	DIABETES/OBESIDAD	30/09/19	4 UI/ ml
FEMENINO	HIPOTIROIDISMO	24/03/20	5 UI/ml

Fuente: Técnica Seroneutralización estandarizada, La Paz, INLASA, 2021

La producción de anticuerpos antirrábicos que se obtuvieron demuestra que la Vacuna Antirrábica que produce el INLASA es eficaz ya que se observó que hasta el año después de la administración las personas tuvieron un nivel suficiente para estar protegidas contra el virus de la rabia.

Los costes para dicha prueba para medir los anticuerpos antirrábicos se utiliza la Prueba de Sero-neutralización, que tarda aproximadamente 7 días en dar los resultados, al ser una prueba Biológica que se realiza en ratones adultos de 14 gramos es una prueba efectiva ya que el ratón muere ante la presencia de una sola partícula viral. Según se describe es aproximadamente 240 Bs. Anexo ver tabla 4.

IX DISCUSIÓN.

El análisis de todos los resultados es producto de una valoración de los indicadores. Siendo la presentación de resultados en forma textual, mediante cuadros estadísticos y gráficos

Interpretación de resultados de la Prueba Seroneutralización

Se anotó el número de ratones muertos entre los días 6 y 14 de la inoculación. Posteriormente se utilizó la fórmula de Reed-Meunch para calcular el punto final del 50% de mortalidad de las diluciones de virus. Esta titulación indicará si las dosis letales utilizadas fueron las correctas.

Se calculó el punto final del 50% con la fórmula de Reed-Meunch del suero de referencia internacional y los sueros problema. El Comité de Expertos de la OMS sobre rabia indica la necesidad de recibir inmunización de refuerzos cuando el título baja de 0,5 UI/ml. (26).

Si analizamos la significancia estadística de la variable tiempo de vacunación previo a la extracción de sangre, observamos que hay diferencias significativas entre las categorías (menor y mayor a un año).

Son muchos los factores que pueden influir para que las personas 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 salud de la persona, así como su estado nutricional. (28) 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, la Vacuna que se utilizó fue la de uso Nacional.

En nuestro país, si bien se recomienda la vacunación anual, la misma no es obligatoria, pudiendo ser ésta una práctica no tan frecuente. Además, las revacunaciones en las personas, muchas veces no se realizan en la forma que corresponde, limitándose muchas veces sólo a aquellos que sufrieron algún accidente con exposición al virus.

De los 30 sueros de personas con vacunación previa analizados, sólo 22 (73.3 %) mostró un nivel de protección según lo establecido por la OMS (mayor o igual a 0.5 UI/ mL). Esto es un porcentaje adecuado de protección que indica el status inmunológico de las personas previamente inmunizadas frente al virus de la rabia.

Si analizamos los resultados según tiempo de vacunación previo a extracción de sangre, vemos que las personas con vacunación reciente (menor a 6 meses) mostraron un 100 % de protección, entre 6 meses y 1 año de vacunación 87,5 % y con más de 1 año de vacunación solo una persona tenía protección contra el virus de la rabia.

Estos resultados permiten observar que, a mayor tiempo transcurrido desde la vacunación, menor protección de las personas, 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 administración de una dosis de Vacuna antirrábica anual se recomienda comúnmente en nuestro país a personal expuesto a este biológico. Ya que el biológico que se utiliza es una Vacuna del tipo Inactivado, por lo cual requiere el mismo los refuerzos respectivos.

Los resultados de este trabajo, dejan de manifiesto el posible riesgo de infección que tiene la población analizada, el virus podría ser transmitido fácilmente por

cualquier accidente y/o exposición al mismo. Al no presentar un nivel adecuado de protección, constituye sin duda un problema importante para las personas que manipulan el virus rábico.

La mayoría de los trabajos de investigación que describe en el apartado de los antecedentes realizó la sero-cuantificación de anticuerpos antirrábicos con otras técnicas alternativas a la seroneutralización utilizada en el presente trabajo. Como por Ejemplo Prueba Rápida de Inhibición del Foco Fluorescente (RFFIT), Ensayo Inmuno-Absorbente Ligado a Eenzimas ELISA, Contra-inmuno-electroforesis, neutralización por reducción del número de placa, etc. Sin embargo, cabe mencionar que la todas estas pruebas, deben estandarizarse con la prueba madre que es la seroneutralización ya que la misma es biológica y las demás se realzan in vitro. (8), (12), (14), (17), (18).

Es importante mencionar que en el presente trabajo se utilizó la Vacuna antirrábica de uso Humano cuyo sustrato es el cerebro de ratón lactante (CRL), el cual comparado con vacuna antirrábica en cultivo celular es menos inmunogénica por lo cual no es lo mismo esperar la respuesta inmune similar ya sea en una persona o un perro, como lo describe el trabajo de investigación llevado a cabo en Chile el 2004 en Chile donde se comparó ambas vacunas. (6).

Se midieron anticuerpos antirrábicos en la mayoría de los trabajos en campañas post vacunación alcanzando niveles protectivos en un rango de 60 a 70%, no especificando que tipo de Vacuna se utilizó (niveles de anticuerpos mayor o igual que 0,5 UI., habiendo recibido 3 dosis de vacuna antirrábica como mínimo. En nuestro trabajo los resultados fueron algo similares ya que el 78.8 % esta protegido y el 26.6 % no protegido recibiendo 3 o mas dosis de Vacuna antirrábica tipo CRL.

X. CONCLUSIONES

Por los resultados obtenidos se puede concluir en definitiva existe una relación directamente proporcional entre la vacuna aplicada de forma recurrente y el tiempo de vacunación con los niveles protectivos de anticuerpos antirrábicos. A mayor número de dosis y la vacunación menor a un año existe inmunidad al virus de la Rabia, por lo tanto, se confirma la hipótesis planteada.

Son muchos los factores que pueden influir para que las personas no presenten un nivel adecuado de protección tras la vacunación (administración de refuerzo). Entre ellos podemos citar una de las más importante es el tipo de Vacuna ya que actualmente todas son de tipo inactivado y necesariamente necesitan refuerzos del mismo. También se puede incluir a la calidad de las vacunas y su capacidad inmunogénica según el sustrato que tengan (Vacunas en cultivo celular, vacunas en embrión de pollo, etc.), la forma de conservación de las mismas, la correcta administración, el estado de salud de la persona, 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.

Se observó una mayor producción de anticuerpos antirrábicos, a los funcionarios que recibieron un refuerzo antes del año y no así en aquellos individuos que recibieron una dosis de refuerzo después del año o simplemente no recibieron la dosis de refuerzo correspondiente.

XI. RECOMENDACIONES.

Por lo tanto, se recomienda en todos los Laboratorios donde se manipula el virus de la rabia, especialmente en el nuestro, se realicen obligatoriamente el análisis serológico a las personas que tienen una relación directa e indirecta al virus de la rabia, también a todas las personas inmunodeprimidos o con enfermedades de base donde hay deficiente producción de anticuerpos ya que se puede tomar medidas necesarias o tratamientos alternativos antes que el virus de la rabia llegue al cerebro y nos produzca una encefalitis en cuyo caso sería demasiado tarde.

Por la importancia y por el riesgo de perder la vida TODAS las personas que tienen riesgo de contraer el virus de la rabia o que ya han sido expuestas al mismo (veterinarios, personal de salud que trabaja manipulando el virus de la rabia, inmunodeprimidos por cualquier enfermedad de base, población en general que ha sido expuesto a mordeduras de perros, etc), deben realizarse dicha prueba especialmente las personas más vulnerables (inmunodeprimidos por cualquier enfermedad de base), recordando que la letalidad del virus es 100 % mortal si el virus llega al cerebro.

Si la persona tiene constancia que su organismo no está generando los anticuerpos suficientes para que su organismo este protegido se puede optar por tratamientos alternativos específicos a tiempo (uso de suero antirrábicos, uso de Vacunas de diferente sustrato, etc.).

Por lo descrito es necesaria la aplicación de una dosis de refuerzo de vacuna antirrábica a todas las personas que trabajan en el laboratorio de Producción de Vacunas, población en general, especialmente los inmunodeprimidos o con enfermedad de base (autoinmunitarias o insuficiencia renal o hepática) especialmente en aquellas personas que no tienen la cantidad suficiente de anticuerpos protectivos.

Según los resultados serológicos obtenidos realizar normas donde el personal expuesto deba recibir una dosis de refuerzo anualmente o en su caso cada 2 años según corresponda.

XII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Salud). (Mdl. Comité de expertos de la OMS sobre la rabia. Octavo informe. Ginebra: OMS; 1992.
2. Fernandez Pelta r VRE. Reacciones Adversas Medicamentosas, Valoración Clínica. 3rd ed. Madrid España: Ediciones Díaz de Santos. S.A; 1992.
3. Ministerio de Salud. Norma Nacional de Profilaxis de la Rabia Humana y Animales Domésticos. Documentos Técnicos – Normativos. La Paz – Bolivia;; 2012.
4. De Jawetz MyA. Microbiología Médica. 14th ed. C.V, S.A , editor. México, D.F: El Manual Moderno; (1992).
5. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud
6. Código Zoosanitario Internacional Mamíferos aya. Código Zoosanitario Internacional Mamíferos, Aves y Abejas. París, Francia: office international des epizooties organización mundial de sanidad animal; 2000. Report No.: Novena edición.
7. Myriam Favi Vyp. "Evaluación de la capacidad inmunogénica de la vacuna antirrábica tipo Fuenzalida-Palacios (CRL) y de la vacuna antirrábica de cultivo celular (Verorab®) en personas con tratamiento pre exposición". Rev Méd Chile ; 132. 2004.
8. P. Martinez Mvmf. "Comparación antigénica y de la respuesta inmune en ratones desafiados con virus CVS y aislados «calle» y «fijo» presumiblemente atípicos del virus rábico. Arch. med. vet. Valdivia 1999; v.31(n.1).

9. Matia Dzaz Ala. "la técnica de contra-inmuno-electroforesis para la determinación de anticuerpos antirrábicos". Organización Panamericana de la Salud Centro Panamericano de Zoonosis; 1986.
10. Torres Lmdlmc. "Evaluación de los esquemas de vacunación antirrábica en personas mordidas por animales y atendidos en un consultorio urbano de la provincia de Valdivia. In ; 2005-2006; VALDIVIA.
11. María De Los A. Ribas Lar. "Detección de anticuerpos antirrábicos en personal de riesgo con el empleo de la técnica de neutralización por reducción del número de placas". Rev. Cubana Med. Trop. Mayo-ago. 2003; v.55(n.2).
12. Miceli Gsneoem. "Determinación de la concentración de antígenos en vacunas antirrábicas de uso veterinario por una prueba inmunoenzimática". Revista: Analecta Veterinaria. 2002; vol. 22(no 3).
13. Mancilla Mkf, Angulo Pmj. "Evaluación de títulos de anticuerpos post vacúnales del virus de rabia canina mediante la técnica de ELISA en la ", año Facultad de Ciencias Veterinarias. In ; 2006; ciudad de santa cruz de la sierra UAGRM.
14. K Suzuki 1, E T González, G Ascarrunz. ,. Antibody response to an anti-rabies vaccine in a dog population under field conditions in Bolivia. Zoonoses Public Health. 2008 Octubre; 14(8).
15. R M S Pimburage 1, M Gunatilake. Sero-prevalence of virus neutralizing antibodies for rabies in different groups of dogs following vaccination. Clinical Trial BMC Vet Res. 2017 May; 18(13).

16. Delgado 1, P Cármenes. Immune response following a vaccination campaign against rabies in dogs from northwestern Spain. *Prev Vet Med.* 1997 Aug; 3(3).
17. Alcarraz OC. "Inmunidad poblacional contra el virus de la Rabia en canes previo a la campaña de vacunación antirrábica en el distrito de surquillo tesis mag. Heredia UC, editor. Lima: Fac. Vet.; 2020.
18. María del Pilar Sánchez Bonilla NPGM. Estado de inmunidad humoral posvacunal de caninos y felinos en un foco de rabia canina de origen silvestre de una región de Colombia. *Rev. investig. vet. Perú.* 2020 abr./jun; vol.31(no.2).
19. Marcucci DIBHd. Situación actual de vacunación antirrábica en Médicos Veterinarios y/o Zootecnistas en Guatemala, 2016 Tesina. Guatemala USCd, editor. Guatemala: Fac. de medicina Veterinaria y Zootecnia; 2016.
20. (Organización Panamericana de la Salud). Guía para el tratamiento de la rabia en el hombre. publicación Técnica. Organización Panamericana de la Salud; 1994. Report No.: N° 2.
21. (Impaz). IPdPdAyZ. Guía para el tratamiento de la Rabia en el Hombre. Publicación Técnica N°2. ; 1994.
22. Jawetz MyA. *Microbiología Médica.* 14th ed. S.A. , editor. México, D.F.: El Manual Moderno; 1992.
23. Koprowski H.. 4th Edition FMMKaHK. The fluorescent antibody test. In: *Laboratory techniques in rabies.* Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1996.
24. María del Pilar Sánchez OADS. Rabia en las Américas, varios desafíos y Una Sola Salud. *Rev. investig. vet. Perú.* 2019 oct./dic.; 30(4).

25. Salud Md. XI Reunión Internacional sobre avances en la investigación y control de la rabia en las Américas. .
26. López Ingunza Reccyador. Manual De Procedimientos Para El Diagnóstico De La Rabia. (Serie de Normas Técnicas; 31. Lima: Ministerio de Salud- Instituto Nacional de Salud; 2002.
27. Fuenzalida E Pr. Un método mejorado en la preparación de la vacuna antirrábica. Chile: Bol Instit Bacterio; 1995.
28. Salud OPdl. Curso de gerencia para el manejo efectivo del Programa Ampliado de Inmunización (PAI). Módulo II. Washington, D.C.: OPS; 2006. Report No.: Vacunas del PAI.
29. Cervo AlyBPA. “Metodología científica”. Primera edición ed. México: Editora McGraw-Hill; 1992.
30. María del Pilar Sánchez OADS. Rabia en las Américas, varios desafíos y «Una Sola Salud. Rev. investig. vet. Perú. 2019 oct./dic. ; vol.30 (No.4).

XIII ANEXOS

Anexo 1.

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1.- Código de participante:

2.- Edad:

3.- Sexo: 1 M 2 F

4.- Peso:

5.- Talla

6: IMC

7.- Vacunado para rabia: 1 (SI) 2 (NO)

8.- Año de ingreso al INLASA.....

9.- Total de número de dosis administradas desde de su ingreso.....

10.- Fecha de ultima dosis.....

Anexo 2.

Encuesta sobre la presente investigación en la que se detalla detalló los factores sociodemográficos, determinantes ambientales y laborales:

“Evaluación de la inmunidad al virus de la rabia en el personal de Salud previamente vacunado del INLASA área de producción de inmuno-biológicos gestión 2020”.

Numero de encuesta:.....Fecha de la Encuesta: DíaMes.....Año.....
INFORMACION PARA EL ENTREVISTADO: Buenos días mi nombre es: Nelson Mendoza Solano, quiero informarle que la Unidad de Postgrado de la Facultad de Medicina está realizando una investigación sobre Evaluación de la inmunidad al virus de la rabia en el personal de Salud previamente vacunado del INLASA área de producción de inmuno-biológicos gestión 2020. Su participación es muy importante para la investigación, para lo cual solicito de la manera más atenta su colaboración en el llenado de la presente encuesta.
INSTRUCCIONES GENERALES Por favor use un bolígrafo azul legible Es posible marcar más de una opción en alguna de las preguntas Marque con un X y/o una línea

VARIABLES SOCIODEMOGRAFICOS

N°	VARIABLE	CODIGO Y RESPUESTA
1	Sexo	1. Masculino 2. Femenino
2	Estado Civil	1. Soltero/a 2. Casado/a 3. Concubino/a 4. Separado/a 5. Divorciado/a 6. Viudo/a
3	Edad (años cumplidos)	
4	Número de hijos	

VARIABLES PROFESIONALES Y LABORALES

5	Profesión	1. Médico Especialista 2. Medico General 3. Odontólogo 4. Lic. En Enfermería 5. Nutricionista 6. Bioquímico/Farmacéutico 7. Aux. de Enfermería 8. Otros
6	Relación Contractual	1. Ítem 2. Contrato 3. Otros
7	Carga Horaria	1. Tiempo completo 2. Medio Tiempo 3. Otros
8	Antigüedad de trabajoañosmeses
9	Dependencia Institucional	1. SEDES La Paz 2. Ministerio de Salud 3. G.A.M.V. 4. Ong's

		5. Otros (mencionar)
10	¿En qué turno trabaja?	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mañana 2. Tarde 3. Noche 4. Por turnos 5. Discontinuo 6. Otros

DETERMINANTES AMBIENTALES (SOCIOECONÓMICOS)

11	Estado civil	<ol style="list-style-type: none"> 1. Soltero/a 2. Casado/a 3. Concubino/a 4. Separado/a 5. Viudo/a
12	Nivel de instrucción (marcar solo si terminó)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Primaria 2. Secundaria 3. Técnico 4. Universidad (licenciatura) 5. Postgrado 6. Ninguno
13	¿Cuál es su ocupación actual? (Leer las opciones)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Empleado/a del sector público o privado 2. Trabajador/a independiente 3. Estudiante 4. Ama de casa 5. Jubilado 6. Desempleado (puede trabajar) 7. Desempleado (no puede trabajar por discapacidad, enfermedad u otro)
	Si trabaja es:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Permanente o fijo

		2. Temporal
14	¿La vivienda donde usted habita es?	1. Propia 2. Anticrético 3. Alquiler 4. Prestada
15	¿Usted en su casa, con qué servicios básicos cuenta? (leer las opciones)	1. Electricidad 2. Agua potable 3. Alcantarillado 4. Pozo ciego 5. uno
	¿Cuántas personas comen de la misma olla y duermen en esta casa?	Nº de personas.

¡Muchas gracias por su participación!

Anexo 3.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El consentimiento informado, es el derecho que usted tiene de aceptar libremente y sin presiones, que por necesidad diagnóstica o terapéutica, se realice algún procedimiento clínico, laboratorial, imagenológico e instrumental, previa explicación clara del personal que lo practicará con el fin de que sepa y comprenda como será realizado y las eventuales complicaciones además de tener derecho a preguntar cualquier duda y obtener respuesta satisfactoria.

AUTORIZACION DE PROCEDIMIENTOS

A continuación, se describen los procedimientos en el cual se le administrará un biológico (vacuna antirrábica elaborará en el INLASA).

	NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO	DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO Y POSIBLES COMPLICACIONES
1	Extracción de sangre	Es la punción con una aguja de una arteria o vena para la recolección de sangre y análisis en laboratorio. Se realizará una sola vez según planificación. Entre las complicaciones se tienen sangrados o aumento de volumen en el lugar de la punción

Observaciones. -

A continuación, se describirá el procedimiento que no se menciona en la tabla, pero que es necesario realizarlo en su familiar.

Requiere como medidas de apoyo

.....
.....
.....
.....

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Yo.....

(Nombre del familiar o representante legal) de.....años, con número de CI.....declaro que he sido informado(a) plenamente por el Dr.(a).....sobre los beneficios, riesgos y las posibles complicaciones del o de los procedimientos que se me han descrito, me fueron aclaradas todas las dudas proporcionándome el tiempo suficiente para ello, pero además se me explicó sobre el estado actual de mi familiar.....(Nombre del paciente) y de la posibilidad de fallecimiento.

Por lo que de mi libre voluntad y sin presión alguna doy mi consentimiento previa información, aceptando los diferentes procedimientos necesarios y requeridos para mantener la vida de mi familiar. Haciendo notar que el cualquier momento previo aviso, puedo REVOCAR este consentimiento informado, eximiendo al personal del servicio de Terapia Intensiva Adultos de las responsabilidades por causa de mi acto.

Para constancia de conformidad con lo antes descrito, firmamos al pie del presente documento.

Es dado en la ciudad de La Paz, a horas.....del día.....mes.....del año 20.....

Nombre y apellido, firma del (a) paciente
CI.....

Firma y sello del Médico

Apoderado o familiar responsable
CI.....

Nombre y apellido del Testigo

Anexo 4.

DESCRIPCIÓN Y PROCEDIMIENTO DETALLADO DE LA TOMA DE MUESTRA (EXTRACCIÓN DE SANGRE)

La presente investigación. Es un estudio cuantitativo con un universo constituido por 30 personas que trabajan en el Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA) previamente vacunado y que están en riesgo de contraer la enfermedad por manipular de forma directa o indirecta con el virus de la rabia, a las mismas se le tomará una muestra de sangre de 10 ml a ser tomadas por 2 bioquímicos-farmacéuticos que trabajan en el Laboratorio, los cuales realizarán lo siguiente:


- La sangre se extraerá de una vena localizada en la parte interior del codo o el dorso de la mano.
- El sitio se limpia con un desinfectante (antiséptico).
- Se coloca una banda elástica alrededor de la parte superior del brazo con el fin de aplicar presión en la zona. Esto hace que la vena se llene de sangre.
- Se introduce una aguja en la vena.
- Se recoge la sangre en un frasco hermético o en un tubo adherido a la aguja.

El mismo se almacenará a -20 grados centígrados, posteriormente se cuantificará la titulación de anticuerpos antirrábicos, para la misma se realizará la técnica de sero-neutralización para saber si la persona está protegida o no contra el virus de la rabia, todo este procedimiento se llevará a cabo en el Laboratorio de Producción de Vacuna antirrábica de uso Humano dependiente de la Unidad de Inmunobiológicos del Instituto Nacional de Laboratorios en salud (INLASA).

**Anexo 5.
CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR EL TRABAJO FIRMADA POR
EL JEFE DE LABORATORIO**

MINISTERIO
de SALUD
NACIONAL DE BOLIVIA

INLASA
INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD
DR. NÉSTOR MORALES VILLAZÓN


Más de 100 años contribuyendo
a la Salud Pública de Bolivia

La Paz 25 de septiembre del 2020

ES SUSCRITO JEFE DE LABORATORIO DE PRODUCCION DE BIOLÓGICOS
DEPENDIENTE DEL INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD -
INLASA- Dr. ALFONSO BOLAÑOS MOLINA. A PEDIDO DEL INTERESADO:

CERTIFICA:

Que al Dr. Nelson D. Mendoza Solano se le otorgó permiso para realizar el trabajo
de investigación titulado "EVALUACION DE LA INMUNIDAD AL VIRUS DE LA
RABIA EN EL PERSONAL PREVIAMENTE VACUNADO INLASA, 2020".

Es cuanto certifico para fines que convenga el interesado.



**JEFE LABORATORIO PRODUCCION
DE BIOLÓGICOS Y BIOTERIOS**

Cc. Dirección General Ejecutiva INLASA

Dirección: Rafael Zubieta N° 1889 (Lado del Estado Mayor General del Ejército) Miraflores • Casilla M - 10019
Teléfonos: 2226048 - 2226670 - 2225194 - 2225198 • Fax: 591-2-2228254 - 2225007
Página web: www.inlasa.gob.bo • La Paz - Bolivia

Anexo 6.

			NIVEL DE PROTECCION		Total
			BUENO	MALO	
→ ULTIMA DOSIS ADMINISTRADA	MENOR A 6 MESES	Recuento	14	0	14
		Recuento esperado	13,4	,6	14,0
	MAYOR A 6 MESES	Recuento	7	1	8
		Recuento esperado	7,6	,4	8,0
Total	Recuento		21	1	22
	Recuento esperado		21,0	1,0	22,0

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	1,833 ^a	1	,176	,364	,364	
Corrección de continuidad ^b	,084	1	,772			
Razón de verosimilitud	2,108	1	,147	,364	,364	
Prueba exacta de Fisher				,364	,364	
Asociación lineal por lineal	1,750 ^c	1	,186	,364	,364	,364
N de casos válidos	22					

a. 2 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,36.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

c. El estadístico estandarizado es 1,323.

Anexo 7.

Tabla cruzada TOTAL DE DOSIS ADM*NIVEL DE PROTECCION

			NIVEL DE PROTECCION		Total
			BUENO	MALO	
TOTAL DE DOSIS ADM	DE 0 A 5	Recuento	7	5	12
		Recuento esperado	8,5	3,5	12,0
	DE 11 A 15	Recuento	5	0	5
		Recuento esperado	3,5	1,5	5,0
Total		Recuento	12	5	17
		Recuento esperado	12,0	5,0	17,0

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	2,951 ^a	1	,086	,245	,128	
Corrección de continuidad ^b	1,286	1	,257			
Razón de verosimilitud	4,296	1	,038	,138	,128	
Prueba exacta de Fisher				,245	,128	
Asociación lineal por lineal	2,778 ^c	1	,096	,245	,128	,128
N de casos válidos	17					

a. 3 casillas (75,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1,47.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

c. El estadístico estandarizado es -1,667.

b. El estadístico estandarizado es 1,286.

Anexo 8.

Tabla cruzada NIVEL DE PROTECCION*INDICE MASA CORPORAL

		INDICE MASA CORPORAL			Total	
		NORMAL	SOBREPESO	OBESIDAD I		
→ NIVEL DE PROTECCION	BUENO	Recuento	3	19	1	23
		Recuento esperado	2,3	19,2	1,5	23,0
	MALO	Recuento	0	6	1	7
		Recuento esperado	,7	5,8	,5	7,0
Total	Recuento	3	25	2	30	
	Recuento esperado	3,0	25,0	2,0	30,0	

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	1,714 ^a	2	,424	,582		
Razón de verosimilitud	2,270	2	,321	,582		
Prueba exacta de Fisher	1,654			,503		
Asociación lineal por lineal	1,655 ^b	1	,198	,305	,219	,193
N de casos válidos	30					

a. 4 casillas (66,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,47.

b. El estadístico estandarizado es 1,286.

Anexo 9.
Familia Rhabdoviridae

Elías F. Rodríguez Departamento de Sanidad animal, El virus de la Rabia y virus afines consideraciones modernas sobre una enfermedad antigua, Universidad de León, UIMP-VALENCIA, octubre 2007.

Género	Miembros	
<i>Lyssavirus</i>	Serotipo/genotipo 1	Virus de la rabia clásica o “virus calle” (cepa silvestre) Cepas de virus fijo vacunales
	Serotipo/genotipo 2	Virus de murciélago de Lagos (Lagos bat)
	Serotipo/genotipo 3	Virus Mokola
	Serotipo/genotipo 4	Virus Duvenhage,
	Genotipo 5	Lyssavirus de murciélago europeo 1, EBL1 (EuropeanBatLyssavirus)
	Genotipo 6	Lyssavirus de murciélago europeo 2, EBL2 (EuropeanBatLyssavirus)
	Genotipo 7	Lyssavirus de murciélago australiano, ABL (AustralianBatLyssavirus).
<i>Vesiculovirus</i>	Virus de la estomatitis vesicular. Otros virus que infectan vertebrados e invertebrados	

Anexo 10.**Diagnóstico de Laboratorio**

MANUAL MERCK DE VETERINARIA,. Manual de Diagnóstico, Tratamiento y Prevención y Control de Las Enfermedades, para el Veterinario. 1988, Tercera Edición, Centrum, España. Pp. 697-701.

Pruebas de laboratorio	HUMANOS		ANIMALES
	Antemortem	Post mortem	Post mortem
IFD	Impronta de córnea	Tejido cerebral	Tejido cerebral
	Biopsia de piel cabelluda		
Aislamiento viral (en animales o cultivos celulares)	Saliva	Tejido cerebral	Tejido cerebral
	LCR		
Detección del genoma viral (PCR)	Saliva	Tejido cerebral	Tejido cerebral
	LCR		
Detección de anticuerpos antirrábicos (RFFIT*, ELISA, IFI**)	LCR		
	Suero (sin vacuna ni suero antirrábico previos)		

Anexo 11.**Tratamiento Post Exposición de Rabia Humana**

INPPAZ/OPS/OMS.1994. *Guía para el Tratamiento de la Rabia en el Hombre, Buenos Aires-Argentina, INPPAZ, OPS/OMS, Publicación Técnica 2. pp. 86.*

Animales domésticos (perros y gatos)		
Naturaleza del contacto	Condición del animal	TPE
Contacto indirecto	Aparentemente sano o con signos sugestivos de rabia	No tratamiento
Contacto con lesión leve	Aparentemente sano o con signos sugestivos de rabia: a) Observación por 10 días	Iniciar vacunación hasta el día 5 y no continuar solo si el animal está clínicamente sano
	b) Animal escapado	Iniciar inmediatamente vacunación
	c) Animal muerto	Iniciar inmediatamente vacunación y discontinuar solo si el resultado del laboratorio es negativo (IFD)
Contacto con lesión grave por mordedura	Aparentemente sano o con signos sugestivos de rabia:	Iniciar TPE con suero y vacuna hasta el 5º día y no continuar el

	a) Observación por 10 días	esquema solo si el animal está clínicamente sano
	b) Animal escapado	Iniciar inmediatamente TPE con suero y vacunación a esquema completo
	c) Animal muerto	Iniciar inmediatamente TPE con suero y vacunación a esquema completo y discontinuar solo si el resultado del laboratorio es negativo (IFD)
Animales silvestres		
Animales silvestres excepto murciélagos	Con posibilidad de diagnóstico de laboratorio	Inicio inmediato de TPE con suero y vacunación a esquema completo y discontinuar solo si el resultado del laboratorio es negativo (IFD)
	Sin posibilidad de diagnóstico de laboratorio	Inicio inmediato de TPE con suero y vacunación a esquema completo
Murciélagos (especie de alto riesgo). El descarte de rabia en estos animales solo puede ser realizado por prueba biológica que demora hasta 45 días.		Inicio inmediato de TPE con suero y vacunación a esquema completo

Anexo 12.

Tabla No. 4 descripción de insumos y costos para la realización de la prueba seroneutralización

Ítem	Descripción de los insumos y/reactivos	Cantidad	Costo por Unid	Costo Ref.
1	Ratones albinos adultos de 14 a 16 gramos	24 Unid	2 Bs	48 Bs
2	Suero antirrábico de referencia internacional	1 Unid	150 Bs.	150 Bs.
3	Suero problema (en estudio)	1 Unid	5 Bs.	5 Bs
4	Mantenimiento de los ratones	1 Unid	15 Bs	15 Bs.
5	Jeringas, pipetas micropipetas Tips, varios (mechero, alcohol, etc.)	1 Unid	22 Bs	22 Bs.
TOTAL				240 Bs.

Fuente: Elaboración propia (Según precios preferenciales que me otorgó la MAE para el presente trabajo de investigación)

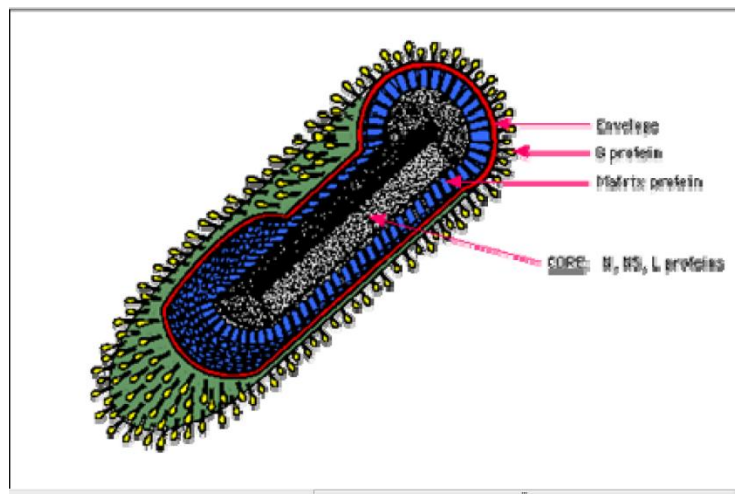
Anexo 13.

1. Microfotografía electrónica del virus



Fuente: Elías F. Rodríguez Departamento de Sanidad animal, *El virus de la Rabia y virus afines consideraciones modernas sobre una enfermedad antigua*, Universidad de León, UIMP-VALENCIA, octubre 2007.

2. Esquema de la estructura del virus

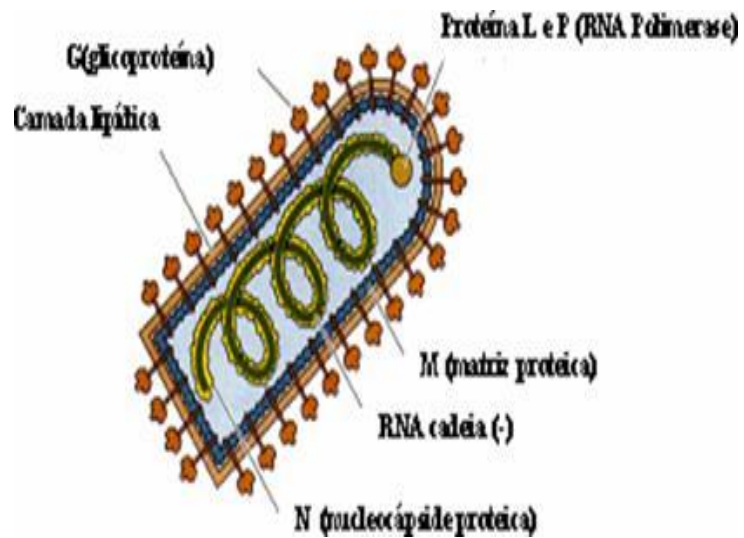


Fuente: MERCHANT y PACKER. 1995. *Bacteriología y Virología Veterinarias, Tercera Edición (Original en Inglés), Traducción M. Cordero del Campillo Zaragoza, España. Editorial Acribia. Pp. 24*

Anexo 14.

Esquema de la estructura del virus

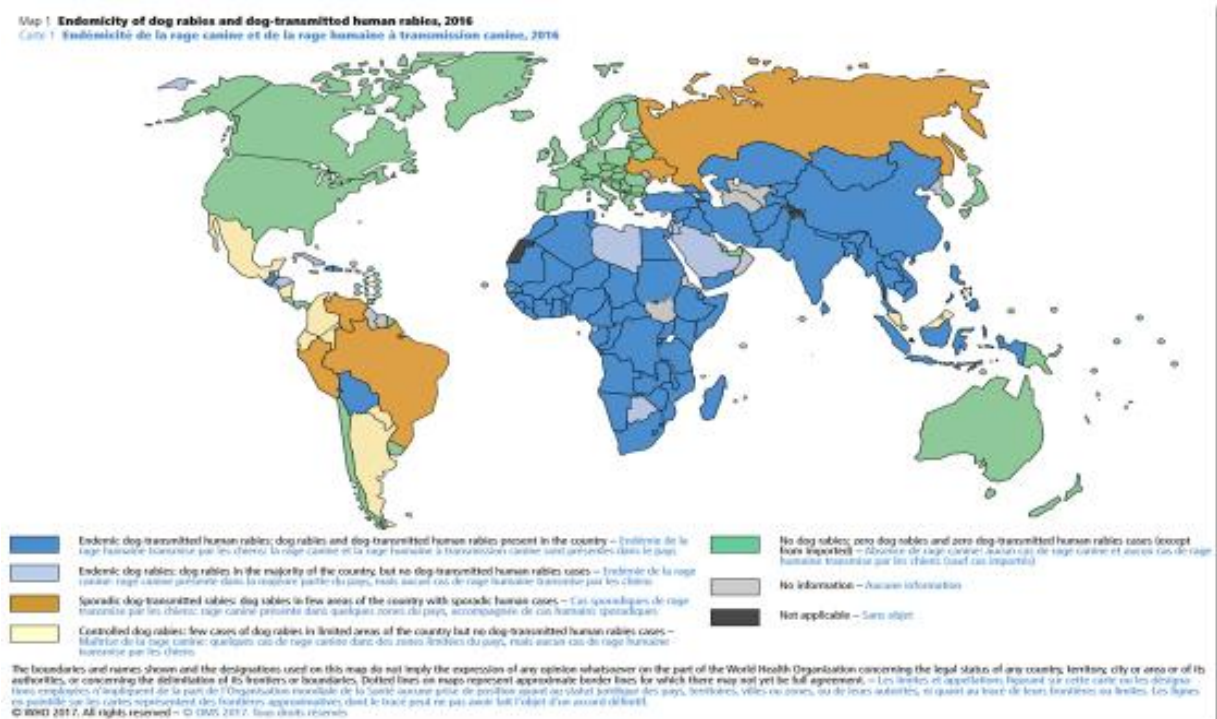
MERCHANT y PACKER. 1995. *Bacteriología y Virología Veterinarias*, Tercera Edición (Original en Ingles), Traducción M. Cordero del Campillo Zaragoza, España. Editorial Acribia. Pp. 24



Fuente: De Jawetz MyA. *Microbiología Médica*. 14th ed. C.V, S.A , editor. México, D.F: El Manual Moderno; (1992).

Anexo 15. Distribución mundial de la Rabia

Elías F. Rodríguez Departamento de Sanidad animal, El virus de la Rabia y virus afines consideraciones modernas sobre una enfermedad antigua, Universidad de León, UIMP-VALENCIA, octubre 2016



Fuente: *Elías F. Rodríguez Departamento de Sanidad animal, El virus de la Rabia y virus afines consideraciones modernas sobre una enfermedad antigua, Universidad de León, UIMP-VALENCIA, octubre 2016*