

VACUNA ANTIRRABICA FUENZALIDA-PALACIOS ADMINISTRADA INTRADERMICAMENTE. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN CONEJOS*

Hilda T. Viveros
Miguel Guzmán U.**

1. INTRODUCCION

Desde las investigaciones de Pasteur, la inmunoprofilaxis antirrábica humana posterior a la exposición, se ha basado en el doloroso y prolongado tratamiento con una serie de inoculaciones diarias con vacuna de virus rábico atenuado o inactivado. Este esquema en algunos pacientes, después de un cierto número de dosis, puede desencadenar reacciones que varían desde locales benignas, hasta graves con daños neurológicos irreversibles e inclusive puede causar la muerte. Estas complicaciones neurológicas se atribuyen a fenómenos de hipersensibilidad demorada similar a la operante en la encefalomiелitis alérgica experimental, (Mozar *et al.*, 1973). Investigaciones recientes en simios han demostrado que el factor encefalitogénico es una proteína mielínica (Wiener *et al.*, 1973), más específicamente un polipéptido que contiene triptófano; dicha proteína sensibiliza las células linfocitarias, (Kabat, 1968). Este factor está presente en el Sistema Nervioso Central a partir del cual se preparan buen número de las vacunas, (Bell *et al.*, 1969), entre las cuales podemos mencionar las obtenidas en tejido nervioso de mamíferos adultos como la tipo Semple que contiene virus totalmente inactivado; las tratadas únicamente con fenol constituidas por virus atenuado como la tipo Fermi, (Turner, 1973). También existen las preparadas en tejido nervioso de animales inmaduros como la de cerebro de ratón lactante, (Fuenzalida y Palacios, 1955), la de cerebro de rata lactante, (Karahujumca *et al.*, 1973), y la vacuna en cerebro de conejo lactante (Gispén *et al.*, 1965).

El problema de la encefalomiелitis post-vacunal es bien conocido. Abdussalam y Bögel (1971), señalan que la frecuencia de reacciones ocurre entre 1:527 y 1:8500, en tanto que Appelbaum *et al.*, (1953), indican que aproximadamente una persona entre 1.500 desarrolla encefalomiелitis alérgica después del tratamiento con vacuna antirrábica, preparada en tejido cerebral de animales adultos. Con la vacuna de Fuenzalida-Palacios, se han registrado en ocho países americanos entre 1964 y 1969 treinta y dos casos de reacciones neuroparalíticas identificadas por Held y López (1971), como síndrome de Guillian-Barré, además de los registrados por Rangel (1969). En Colombia, Toro *et al.*, en 1970, consignan los datos de cuatro casos fatales, observando formas

* Contribución del Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV) del ICA (División de Ciencias Veterinarias), y del Instituto Nacional para Programas Especiales de Salud (INPES).

** Respectivamente: Instructor Asistente y Profesor Asociado de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional. El último también Jefe de Microbiología del INPES.
Los autores agradecen la valiosa colaboración en el análisis estadístico del Dr. Enrique Arciniegas Quijano, y del Sr. Rafael Ortiz Meza.

encefalopáticas, mielopáticas y neuropáticas (crónicas y agudas); cifra ésta que hasta la fecha prácticamente se ha triplicado llegando a 11 casos fatales de un grupo de 18 pacientes graves estudiados por Toro y Vergara (1974)*.

Estas complicaciones son riesgos de mucha importancia y sugiere que se debería investigar una nueva ruta que con reducidas series y mínimas dosis de inoculación disminuya la posibilidad de reacciones alérgicas, a la vez que permita una rápida aparición de adecuados niveles de anticuerpos neutralizantes.

El presente trabajo se realizó con el objeto de estudiar en animales de experimentación inoculados intradérmicamente con vacuna Fuenzalida-Palacios en pequeñas dosis y siguiendo diferentes esquemas de inmunización, los siguientes aspectos:

- Momento de aparición de anticuerpos neutralizantes.
- Niveles de anticuerpos alcanzados en distintos períodos.
- Reacciones locales y generales despertadas por esta vía de inoculación.
- Variación en la concentración de fracción Gamma globulina circulante.

2. MATERIALES Y METODOS

Para todas las inmunizaciones se utilizó la vacuna antirrábica producida en Colombia por el Instituto Nacional para Programas Especiales de Salud (INPES), que corresponde a una suspensión al 1% de cerebro de ratón lactante infectado con virus rábico e inactivo con luz ultravioleta según técnica de Fuenzalida-Palacios, (1955).

Para las pruebas de neutralización se utilizó la cepa de virus fijo, virus standard de Confrontación (CVS), suministrado por el laboratorio de producción de vacuna antirrábica del INPES. Para la prueba de seroneutralización se utilizó como suero control positivo, suero equino antirrábico concentrado con una potencia de 100 U.I. El suero control negativo para las pruebas de seroneutralización fue suero normal bovino inactivado a 56°C por 30 minutos sin ninguna actividad antirrábica.

Para el estudio de las diferentes proteínas del suero de los conejos sometidos a inmunización, se utilizó un equipo de electroforesis Beckman-Microzone.

Los animales empleados para la inmunización con vacuna antirrábica fueron conejos blancos de raza Nueva Zelanda de 15 a 17 semanas de edad y un peso promedio de 2 kg. Para la prueba de seroneutralización y para la preparación de antígeno, se utilizaron ratones blancos cepa Charles river de 21 a 25 días de edad y un peso promedio de 14 a 16 gramos.

2.1. ESQUEMAS DE INMUNIZACION

Se utilizó un total de 32 conejos, agrupados en cuatro lotes de ocho cada uno designándose como grupo A, grupo B, grupo C y grupo D. Estos grupos fueron inoculados con diferentes dosis de vacuna antirrábica y por diferentes rutas así:

2.1.1. Grupo A.

Este grupo fue inoculado por vía subcutánea con 1 ml de vacuna antirrábica durante 14 días más dos refuerzos de 1 ml a los 10 y 20 días después de la última inoculación de la serie. Fue considerado como control por el hecho de que tanto el número de dosis como la ruta de inoculación corresponde en general al esquema de inmunización post-exposición recomendado por la OMS.

2.1.2. Grupo B.

Este grupo fue inoculado por vía intradérmica con una dosis única de 0.2 ml de vacuna antirrábica.

* Comunicación personal.

2.1.3. Grupo C.

Este grupo fue inoculado por vía intradérmica con 0.2 ml de vacuna antirrábica aplicada cada 48 horas hasta completar cinco dosis, más dos refuerzos de 0.2 ml cada uno por la misma ruta 10 y 12 días después de la última inoculación.

2.1.4. Grupo D.

Este grupo fue inoculado por vía intradérmica con 0.2 ml de vacuna antirrábica aplicada cada 96 horas hasta completar tres dosis más dos refuerzos de 0.2 ml cada uno a los 30 y 60 días después de finalizada la serie inicial.

La administración intradérmica se hizo de la siguiente manera: en diferentes lugares de la piel depilada y desinfectada con alcohol, haciendo un pliegue con la piel del animal, entre los dedos pulgar e índice de la mano izquierda para presentar soporte a este tipo de inoculación, con jeringa de vidrio de 0.25 ml de volumen y aguja calibre 27 corta, levantando la epidermis con la punta de la aguja e introduciendo suavemente, se inoculó dosis de 0.2 ml de vacuna formándose como consecuencia de esta inyección una pápula de aproximadamente 0.7 mm de diámetro.

Antes de iniciada la vacunación se obtuvieron muestras de sangre de todos los conejos. En cada grupo dichas muestras fueron por punción de la vena marginal o central de la oreja del conejo. La muestra de sangre se colocó a temperatura ambiente por espacio de cuatro horas y luego a 4°C durante toda la noche. Después de la retracción total del coágulo, el suero se obtuvo por centrifugación a 5.000 r.p.m. durante 10 minutos, se envasó en forma aséptica en tubos estériles en volúmenes de 1 ml. Cada tubo fue adecuadamente identificado como muestra 0; estos sueros fueron conservados a -20°C para su uso posterior. Desde el momento de iniciada la vacunación y luego en los días 4 - 7 - 11 - 15 - 18 - 27 - 47 y 80, se tomaron nuevas muestras de sangre colectándose y conservándose el suero en la misma forma descrita. Este muestreo seriado se hizo con el propósito de determinar la aparición y concentración de anticuerpos neutralizantes con cada uno de los esquemas de inmunización utilizados.

2.2. METODOS

2.2.1. Seroneutralización

Las pruebas de seroneutralización utilizadas para determinar los niveles de anticuerpos neutralizantes se realizaron según la técnica descrita por Atanasiu, (1966). Se utilizaron cinco ratones por cada suero o por cada dilución de suero y se descargó a lo largo del experimento de 11 a 500 DL50/0.03 ml en ratón.

Todos los sueros obtenidos, un total de 288, se procesaron para determinar anticuerpos neutralizantes en forma cualitativa; se consideraron positivas aquellas muestras que protegían el 50% de los ratones inoculados con una dilución de 1:2 de suero. Para la prueba de seroneutralización cuantitativa se seleccionaron únicamente los sueros que correspondían a las muestras tomadas en el día 11 - 18 - 47 y 80 día límite del estudio. La seroneutralización cuantitativa se realizó con diluciones seriadas de 1:5 - 1:10 - 1:20 - 1:40 y 1:80; el título neutralizante del suero se expresó como el recíproco de la dilución, la cual protegió el 50% de los ratones inoculados. El título neutralizante del suero calculado por el método de Reed y Muench (1938), se expresó como el recíproco de la dilución la cual protegió el 50% de los ratones inoculados.

2.2.2. Proteinemia

Paralelo con la prueba de seroneutralización, se hizo un estudio de las proteínas del suero de los conejos en experimentación, principalmente para conocer el estado nutricional de los animales a lo largo del estudio evitando así incorrectas interpretaciones de la respuesta inmunológica. La determinación se hizo por medio de la técnica colorimétrica de Bausch y Lomb, (1966).

2.2.3. Electroforesis

Todos los sueros correspondientes a los esquemas A y B de Inmunización, se estudiaron electroforéticamente con el propósito de conocer las posibles variaciones de las fracciones

Gamma Globulina, como consecuencia del estímulo antigénico de la vacuna antirrábica. Para este estudio se utilizó el sistema Beckman-Microzone, siguiendo la técnica descrita en el Manual de Instrucciones Beckman RM-IM-3, (1968).

2.2.4. Estudio estadístico

Para el estudio estadístico de los datos obtenidos en el presente trabajo, se adoptó la distribución de "t" (Student) como la más adecuada para medir la significancia de las diferencias encontradas en los grupos experimentales.

3. RESULTADOS

En los sitios en que se hizo la inoculación subcutánea no se observó reacción local, mientras que en los lugares donde se procedió a la inoculación intradérmica se presentó en algunos casos una moderada zona eritematosa, la cual había desaparecido al cabo de 48 horas.

A partir del día 11 y para los grupos de Inmunización A, C y D se registró por primera vez presencia de anticuerpos; además se notó una relación entre la cantidad de vacuna inoculada y el título de anticuerpos. La Tabla 1 resume los resultados del experimento, por grupos de vacunación así:

TABLA 1. Resultados de las pruebas de seroneutralización en conejos de los Grupos A, B, C y D y diferentes períodos de tiempo. Estudio experimental. Inmunización con vacuna Fuenzalida-Palacios. Bogotá, 1973.

Días Post-Inoculación	Grupos	No. Dosis	Cantidad ml.	% de animales con respuesta	Títulos Recíprocos	
					Límites Variación	Promedio
11	A	11	11.0	100.0	28 - 80	49.50
	B	1	0.2	0	-	-
	C	5	1.0	100.0	10 - 80	27.13
	D	3	0.6	100.0	10 - 23	15.13
18	A	14	14.0	100.0	80	80.00
	B	1	0.2	0	-	-
	C	5	1.0	100.0	18 - 80	50.75
	D	3	0.6	100.0	10 - 26	13.50
47	A	16	16.0	100.0	40 - 124	80.13
	B	1	0.2	0	-	-
	C	7	1.4	100.0	30 - 80	50.88
	D	4	0.8	100.0	10 - 16	11.75
80	A	16	16.0	100.0	30 - 91	52.67
	C	7	1.4	100.0	14 - 80	37.25
	D	5	1.0	100.0	5 - 40	19.89

El día 11, el grupo A con 11 dosis de inoculación correspondiente a 11 ml de vacuna, todos los animales inoculados respondieron con producción de anticuerpos y un título promedio de 50. El grupo B inoculado con una dosis de 0.2 ml de vacuna no presentó respuesta en términos de anticuerpos en ninguno de sus miembros; el grupo C inoculado con cinco dosis de vacuna correspondiente a un total de 1 ml mostró una respuesta de anticuerpos de un 100% y título promedio de 27. El grupo D con tres inoculaciones y un total de 0.6 ml de vacuna presentó un título promedio de 15.

El día 18, el grupo A había completado la serie principal de inoculaciones correspondiente a 14 ml de vacuna; la respuesta fue de todos los integrantes del grupo con título promedio de 80. El grupo B con la serie completa de una dosis continuaba sin respuesta de anticuerpos neutralizantes. El grupo C con la serie de cinco dosis correspondientes a 1 ml presentó respuesta del 100% y promedio de título de 50. El grupo D con tres inoculaciones correspondientes a 0.6 ml de vacuna antirrábica mostró una respuesta total y un promedio de 13.

El día 47 el grupo A completó su esquema de inmunización de 16 dosis de 1 ml cada una correspondiente a 16 ml de vacuna; la respuesta fue de 100% con un título promedio de anticuerpos de 80. El grupo B con una dosis de 0.2 ml no produjo respuesta de anticuerpos y fue descartado por considerarse un tiempo suficiente para determinar respuesta serológica. El grupo C con el esquema de inmunización completo de siete dosis correspondiente a 1.4 ml de vacuna, mostró una respuesta del 100% y promedio de anticuerpos de 50. El grupo D con cuatro dosis de inoculación correspondiente a 0.8 ml presentó un porcentaje del 100% de respuesta un título de 12.

El día 80 límite del experimento, el grupo A con el esquema completo de inmunización correspondiente a 16 ml, presentaba un 100% de respuesta y un promedio de anticuerpos de 50. El grupo C con el esquema de inmunización completo correspondiente a 1.4 ml de vacuna, un porcentaje de respuesta del 100% y título promedio de 37. El grupo D ya con el esquema completo de inmunización correspondiente a 1 ml de vacuna, una respuesta del 100% y título promedio de 20.

En la Figura 1 puede verse el comportamiento de la producción de anticuerpos para los grupos A, C y D. Como se puede apreciar únicamente a partir del día 11, después de la primera inoculación fue posible detectar títulos de anticuerpos en cada uno de los grupos, los cuales persistían aún en el día 80. Para los grupos A y C la producción media de anticuerpos tiene tendencia similar: del día 11, en que comienza la producción, hasta el día 18 se incrementa bruscamente; del día 18 al 47 el nivel es constante para ambos grupos y de ahí en adelante hasta el día 80, en que se hizo la última titulación, se observa un descenso marcado. Es de anotar que el mayor nivel inicial alcanzado así como la mayor disminución tardía en la producción de anticuerpos corresponde al grupo A.

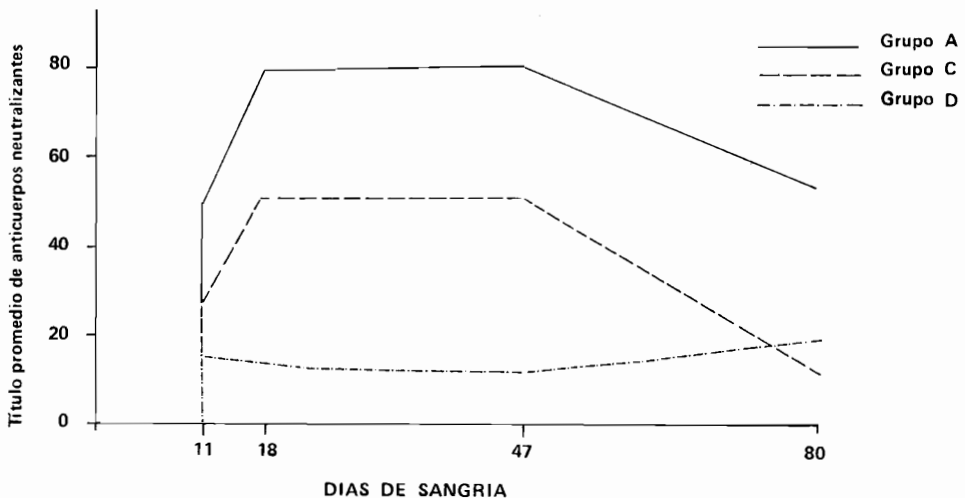


FIGURA 1. Título promedio de anticuerpos neutralizantes de los grupos A, C y D según día de sangría.

El grupo D por el contrario, a partir de un ligero ascenso inicial presenta una tendencia constante de anticuerpos hasta los días 47 en que se evidencia nuevamente una discreta tendencia al aumento hasta el día 80.

Para los niveles de anticuerpos alcanzados en los grupos A y C las diferencias encontradas no son estadísticamente significantes con un 95% de confianza, es decir que la producción de anticuerpos obtenida en el grupo A con 16 ml de vacuna antirrábica y vía subcutánea es similar a la obtenida en el grupo C con 1.4 ml y vía intradérmica.

Estadísticamente las diferencias encontradas en los grupos A y D son significativas, es decir que si se disminuye la cantidad inoculada por vía intradérmica, la respuesta de anticuerpos disminuye realmente. Existe sin embargo en este caso un factor de sesgo que corresponde al esquema diferente de inoculación que fue utilizado con el grupo D (cada 96 horas) comparativamente con el grupo C (cada 48 horas).

Las diferencias encontradas en los días 11 y 47 en los grupos C y D son producidas por el azar, mientras que las correspondientes a 18 y 27 días tienen significancia estadística. Este fenómeno evidencia que las inoculaciones por vía intradérmica producen una mayor respuesta de anticuerpos cuando el tiempo que media entre ellas es menor, aunque los niveles iniciales y finales son similares.

La Tabla 2 muestra la concentración en gramos de la fracción Gamma Globulina para los grupos A y B durante los días 0 - 4 - 7 - 11 - 15 - 18 - 27 y 47. La Figura 2 muestra la tendencia promedio de la concentración de Gamma Globulina de los grupos inmunizados con los esquemas A y B en diferentes períodos y la Figura 3 representa las rectas de regresión correspondientes a estos resultados.

TABLA 2. Concentración en gramos de Gamma Globulina en los conejos de los Grupos A y B según día de sangría. Estudio Experimental. Inmunización con vacuna antirrábica tipo Fuenzalida-Palacios. Bogotá, 1973.

Grupo	Identificación	Días de Sangría							
		0	4	7	11	15	18	27	47
A	276	0.45	0.53	0.69	0.40	0.29	0.31	0.37	0.32
	277	0.55	0.58	0.51	0.55	0.92	0.84	0.83	0.95
	281	0.95	0.73	0.96	0.64	0.84	0.92	0.92	0.58
	282	0.53	0.59	0.44	0.53	0.28	0.43	0.37	0.36
	339	0.62	0.47	0.57	0.61	0.48	0.50	0.47	0.45
	340	0.60	0.37	-	0.31	0.45	0.64	0.49	0.35
	342	0.30	0.45	-	-	0.45	0.48	0.45	0.51
	343	0.50	0.56	0.52	0.58	0.53	0.59	0.58	0.47
B	27	0.58	0.54	0.69	0.72	0.88	0.99	0.91	0.90
	37	0.31	0.49	0.68	0.46	0.60	0.57	0.46	0.76
	32	0.56	0.81	0.82	0.37	0.62	0.56	0.59	0.50
	321	0.78	0.31	0.71	0.46	0.52	0.46	0.62	0.62
	329	0.54	0.66	0.45	0.20	0.47	0.56	0.49	0.66
	330	0.78	0.53	0.38	0.67	0.63	0.60	0.53	0.52
	331	0.74	0.50	0.93	0.63	0.67	0.56	0.40	0.58
	332	0.60	0.51	0.85	0.47	0.54	0.37	0.74	0.58

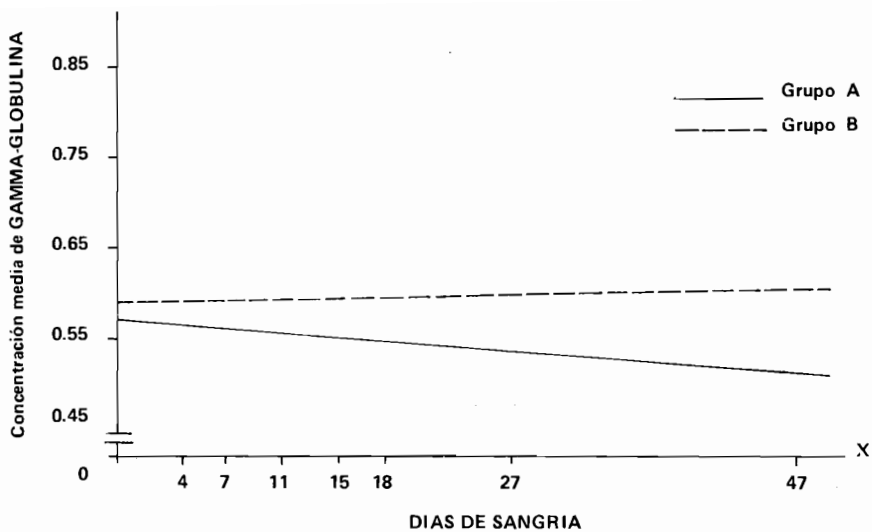


FIGURA 2. Recta de regresión correspondiente a la concentración media de Gamma-Globulina en los grupos A y B, según día de sangría.

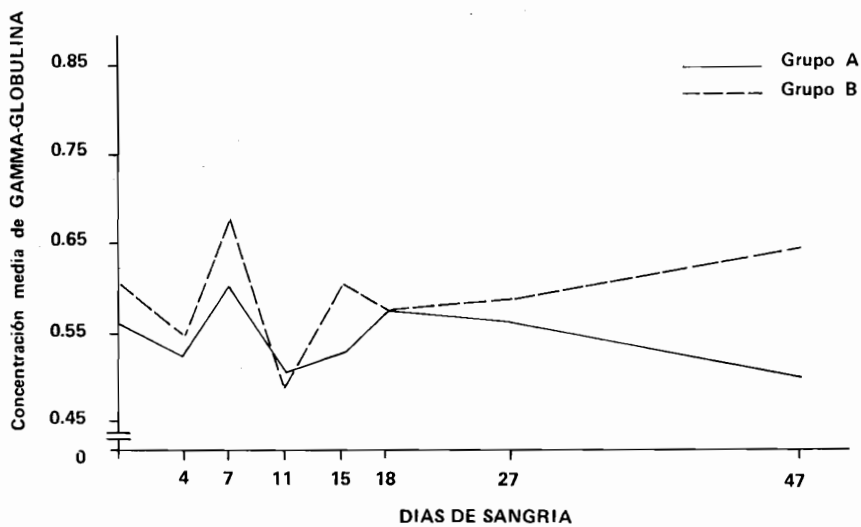


FIGURA 3. Concentración media en gramos de Gamma-Globulina en los grupos A y B, según día de sangría.

Las pruebas estadísticas realizadas con los grupos A y B permiten establecer que no existe diferencia significativa en la concentración circulante de Gamma Globulina para el grupo A, inoculado subcutáneamente con un total de 16 ml de vacuna y que produjo los más altos niveles de anticuerpos y el grupo B, cuya inoculación fue únicamente de 0.2 ml de vacuna sin producción demostrable de anticuerpos.

La Tabla 3 presenta el resultado en gramos de proteinemia del promedio por grupos de inmunización obtenidos durante los días 0 - 4 - 7 - 11 - 15 - 18 - 27 - 57 y 80.

TABLA 3. Promedio de la concentración en gramos de proteinemia en conejos, según grupo de inmunización y días de sangría. Estudio Experimental. Inmunización con vacuna antirrábica.

Grupos de Inmunización	Días de Sangría							
	0	4	7	11	15	18	27	47
A	6.1	5.8	5.9	6.0	5.8	5.7	5.9	6.1
B	5.8	6.0	6.0	5.8	6.2	6.0	6.0	5.0
C	6.2	6.1	6.2	5.8	6.0	6.1	6.2	6.1
D	6.1	5.8	6.0	6.0	6.1	5.9	6.1	6.1

4. DISCUSION

Puesto que la finalidad de este trabajo fue el estudio de la vía intradérmica como ruta de inmunización con vacuna antirrábica Fuenzalida-Palacios, los resultados se evaluaron por la presencia de anticuerpos neutralizantes producidos por el estímulo de los esquemas de inmunización experimental comparados con un grupo cuyo esquema de inmunización correspondía a 14 dosis por vía subcutánea. Se encontró que el momento de aparición de anticuerpos neutralizantes coincidía con los encontrados, en la mayoría de los procedimientos de vacunación antirrábica, en un término entre 10 y 14 días. Posiblemente a partir de este momento el nivel de anticuerpos neutralizantes ejerce una protección efectiva a lo largo de los nervios periféricos por donde se disemina el virus desde el lugar de la infección hasta el sistema nervioso central.

Uno de los resultados más satisfactorios de este estudio es el hallazgo que a los 11 días, el 100% de los animales vacunados, correspondiente a los grupos C y D respondieron con un mínimo de dosis de vacuna (1 ml y 0.6 ml respectivamente) administrada en mínimas dosis (0.2 ml) y por vía intradérmica.

Los resultados en anticuerpos obtenidos con una dosis total de 1.4 ml por vía intradérmica es similar a la que se consiguió por vía subcutánea y 16 ml con una seguridad estadística del 95%. Al disminuir las dosis por vía intradérmica, hasta 1 ml (grupo D) se obtiene una menor respuesta en anticuerpos siendo las diferencias encontradas con el grupo D significativas.

La respuesta bastante similar entre los grupos que recibieron el esquema de inmunización correspondientes al grupo A y grupo C, indican la necesidad de estudios suplementarios dirigidos a la búsqueda de un esquema con mínima cantidad de vacuna aplicada por vía intradérmica, e igualmente la necesidad de ensayar diferentes métodos entre dosis para valorar el esquema más adecuado de inoculación, como lo sugiere los resultados estadísticos obtenidos con los grupos C y D.

Los anticuerpos circulantes persisten durante muchos años y su concentración se puede aumentar fácilmente con dosis vacunales de refuerzo según informe de Fox *et al.*, (1957). Esto se comprobó en parte en nuestro estudio al observar que hasta el día 80, después de iniciada la vacunación, permanecían apreciables títulos de anticuerpos.

La verdadera importancia de la altura de títulos de anticuerpos neutralizantes es discutible; Koprowski (1967), informó que en primates un título de 80 o superior va acompañado de protección contra una confrontación masiva de 10.000.000 de dosis infecciosas de virus para el hombre; el mismo autor (1950) reportó que relativamente pequeña cantidad de antisuero potente suministraba protección significativa en curies contra virus infeccioso; en tanto que Carneiro *et al.*, (1955) y Gómez *et al.*, (1955), fallaron en demostrar completa correlación en título de anticuerpos y resistencia a la confrontación en ganado.

Debido a que los anticuerpos son proteínas correspondientes a la fracción Gamma Globulina del suero, se analizó esta fracción para los grupos A y B a lo largo del experimento. Las pruebas estadísticas realizadas con estos dos grupos, permitieron establecer que no existía diferencia significativa en la producción de Gamma Globulina, es decir que su comportamiento fue similar; de lo cual se deduce que la concentración de anticuerpos no está relacionada con la concentración de Gamma Globulina sino con la actividad biológica de ésta.

La posibilidad de inmunización profiláctica en humanos por vía intradérmica, debe ser explorada como una buena alternativa ya que como se demostró experimentalmente estimula en un 100% la producción de apreciables títulos de anticuerpos con mínimas dosis de vacuna, lo cual hace que la cantidad de tejido nervioso inoculado disminuya considerablemente el riesgo de despertar reacciones neurológicas tipo encefalitis.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos bajo las condiciones de este estudio permiten deducir las siguientes conclusiones:

Si se utiliza la vía intradérmica para inmunización con vacuna antirrábica se obtiene una respuesta similar en el título de anticuerpos con una cantidad mínima de vacuna, (1.4 ml) con relación a la respuesta a la inoculación por vía subcutánea que recibe 16 ml de vacuna.

Si se amplía el tiempo de inoculación intradérmica a 96 horas entre dosis y dosis de 0.2 ml, se observa una disminución en el título de anticuerpos.

Se logra un estímulo mayor en la producción de anticuerpos con la dosis de refuerzo aplicada a mayor distancia de la dosis inicial de vacunación (69 días). A conclusiones similares se llegó en inmunización antirrábica con vacuna preparada en embrión de pato aplicada por vía intradérmica, (Schurrenger *et al.*, 1965).

No existe diferencia significativa en la concentración de Gamma Globulina circulante entre el grupo A, inmunizado con 16 ml de vacuna y que produjo el mayor título de anticuerpos neutralizantes y el grupo B, inoculado con mínima cantidad de 0.2 ml y carencia total de anticuerpos neutralizantes.

No se presenta reacción local en el sitio de la inoculación intradérmica que impida la utilización de esta vía.

6. RESUMEN

Con el objeto de estudiar la vía intradérmica para inmunización antirrábica, utilizando vacuna Fuenzalida-Palacios, se realizó un estudio comparativo de los títulos de anticuerpos neutralizantes en cuatro grupos de conejos inoculados con diferentes esquemas de vacunación e identificados como grupos A, B, C y D. El grupo A recibió dosis diarias de 1 ml de vacuna vía subcutánea durante un período de 14 días más dos refuerzos de igual cantidad a los 10 y 20 días después de suministrada la última dosis de la serie inicial. El grupo B recibió una dosis de 0.2 ml por vía intradérmica, El grupo C fue inoculado con cinco dosis de 0.2 ml por vía intradérmica, cada 48 horas más dos refuerzos a los 10 y 20 días después de la última dosis de la serie; y el grupo D se le inoculó con tres dosis de 0.2 ml por vía intradérmica cada 96 horas más dos refuerzos de igual cantidad a los 30 y 60 días después de la última dosis de la serie principal.

Los grupos A, C y D presentaron respuesta de anticuerpos y fue negativo para el grupo B. Para los niveles de anticuerpos alcanzados en los grupo A y C, las diferencias encontradas no son estadísticamente significantes. El grupo D mostró diferencia estadística con el grupo A (P 0.05).

Evaluando los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que: si se utiliza la vía intradérmica para inmunización, se obtiene una respuesta similar en el título de anticuerpos con una cantidad mínima de vacuna, con relación a la respuesta de la inoculación por vía subcutánea; no existe diferencia en los niveles de Gamma Globulina circulante entre el grupo que recibió mayor estímulo antigénico y aquel que fue inoculado con una dosis mínima de antígeno; la vía intradérmica es una excelente ruta de inmunización que responde con mínimas dosis a la protección, lo cual posiblemente disminuye el riesgo de reacciones alérgicas post-vacunales; no se presenta reacción local en el sitio de la inoculación; sería recomendable intensificar estudios en este campo con miras a una aplicación en humanos.

7. SUMMARY

Fuenzalida-Palacios antirabic vaccine by the intradermic route. Experimental studies in rabbits

The purpose of this work was to study intradermic route for a antirabies Immunization using Fuenzalida-Palacios Type vaccine.

Neutralizing antibodies titers were compared among four groups of rabbits (A, B, C and D) inoculated according with different schedules. Group A (control group) received daily doses of 1.0 ml of vaccine via subcutaneous during fourteen days plus two boosters of 1.0 ml via intradermic 48 hours apart each other, plus two booster 10 and 20 days following the last inoculation. Group D received three shots of vaccine of 0.2 each via intradermic every 96 hours plus two boosters of same amount 30 and 60 days after the last inoculation.

Groups A, C and D, showed neutralizing antibodies. Group B do not. The highest level of antibodies was detected for groups A and C, showing statistical difference between them. Group D do showed statistical difference with Group A. (P 0.05).

Gamma globulina level in group A compared with level in group B showed no statistical difference (P 0.05).

Conclusions: using intradermic route for antirabies immunization (under our experimental conditions) we have seen similar antibody titers compared with control group; there was not difference in circulating level of gamma globuline between the control group and the one receiving minimal amount of antigen (group B); the intradermic route was an excellent one for rabies immunization developing good antibody response with minimal amount of antigen, reducing the risk of post-vaccinal reaction; no local reaction were observed; our results suggest a continues research on this field to dilucidate the possibility of using this route and schedule on human being immunization.

8. BIBLIOGRAFIA

- 1., ABDUSSALAM, M. and K. BOGEL. 1971. The problem of antirabies vaccination. International conference on the application of vaccines against viral, rickettsial and bacterial diseases of man. Washington, OPS/OMS' pp. 54-59. (Scientific publication, 226).
2. APPELBAUM, E.; M. GREENBERG and J. NELSON. 1953. Neurological complication following antirabies vaccination. *Jour. Amer. Med. Ass.* 157:188-191.
3. ATANSIUM, P. 1966. Quantitative assay and potency test of antirabies serum. *Laboratory Techniques in rabies.* (Serie de monografías No. 23). Organización Mundial de la Salud, Second Edition. Ginebra. pp. 167-172.
4. BAUSCH and LOMB. 1966. Métodos y calibraciones para uso con el colorímetro Spectronic 20 de Bausch y Lomb. New York. p. 238.

5. BELL, J.F.; J.T. WRIGHT and K. HABEL, 1949. Rabies vaccine free of the factor causing allergic encephalitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. (EE.UU.)* 70:457-461.
6. CARNEIRO, V.; J. BLACK and H. KOPROWSKI. 1955. Rabies in cattle. Immunization of cattle in Brazil against exposure to street virus of vampire bat origin. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass. (EE.UU.)* 127:366-369.
7. FUENZALIDA, E. y R. PALACIOS. 1955. Un método mejorado en la preparación de la vacuna antirrábica. *Bol. Inst. Bact. Chile.* 8:3-10.
8. FOX, J.P. *et al.*, 1957. Study of antirrabies immunization of man observation with HEP and other vaccines, with and without hyperimmune serum, in primary and recall immunization. *Bull. Wild. Hlth. Org. (EE.UU.)* 17:869-904.
9. GISPEN, R.; G. SCHMITTMANN and B. SAATHOF. 1965. Rabies vaccine derived from suckling rabbit brain. *Arch. Ges. Virus forch. (U.R.S.S.)* 15:366-376.
10. GOMEZ, C.; I. BLACK and H. KORPOWSKI. 1955. Rabies in cattle. Comparative studies on vaccination of cattle in Colombia with Flury virus and chloroform-inactivate vaccine. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass. (EE.UU.)* 127:360-363.
11. HELD, J.R. y H. LOPEZ A. 1971. Complicaciones neurológicas posteriores a la administración de vacuna antirrábica de cerebro de ratón lactante. *Bol. Of. Sanit Panamer. (Argentina)* 71:50-59.
12. KABAT, E.A. 1968. *Chemical modifical antigenes. Structural concepts in immunology and Immunochemistry.* Toronto. Holt. and Wiston, Inc. pp. 19-25.
13. KARAKUJUMCA, M.K.; B.M. PRIZ and V.D. SOLOVEV. 1973. *Laboratory techniques in rabies.* 3th. Ginebra. OMS' p.213. (Serie de monografías, 23).
14. KOPROWSKI, H. *et al.* 1950. Use of hyperimmune antirabies serum concentrates in experimental rabies. *Amer. Jour. Med. (EE.UU.)* 3:412-420.
15. -----, 1967. Vaccines against rabies: present and future. First International Conference on Vaccines against viral and rickettsial disease of man, Washington. OPS/OMS. Scientific Publication No. 147. pp. 488-493.
16. METHOD MANUAL MODEL R-100 MICROZONE ELECTROFORESIS SYSTEM. 1968. Beckman Instruments. Californiam Spinco Division. 80 p.
17. MOZAR, N. *et al.* 1973. Myelopathy after dick embryo rabies vaccine. *Jour. Americ. Med. Ass. (EE.UU.)* 224:1605-1607.
18. RANGEL, S.F. 1969. Respuesta serológica de personas vacunadas contra la rabia con vacuna tipo Fuenzalida. *Rev. Inv. Sal. Publ. (México)* 29:157-168
19. REED, L.J. and H. MUENCH. 1938. Simple method of estimating 50 per cent endpoints. *Amer. Jour. Hyg. (EE.UU.)* 27:495-497.
20. SCHURRENBERGER, P. *et al.* 1965. Avian Embryo rabies Immunization. Optical site and timing of intradermal inoculations in pre-exposure regimens. *Amer. Jour. Of. Egy. (EE.UU.)* 81:146-149.
21. TORO, G.; D. CADENA y E. REY. 1970. Estudio de 4 casos de reacción fatal post-tratamiento antirrábico. Segundo Seminario de Rabia, Manizales. Bogotá, INPES. pp. 82-83.
22. TURNER, G.S. 1973. Vacunas antirrábicas. *Bol. Of. Sanit. Panamer. (Argentina)* 74:511-523.
23. WIENER, L.; R. JOHNSON and R. HERODIN. 1973. Viral infections and demyelinating diseases. *New Engl. Jour. Med. (EE.UU.)* 288:1103-1110.