

## **CARACTERIZACION POR ANTICUERPOS MONOCLONALES DE VIRUS RABICOS DE ORIGEN VAMPIRO AISLADOS EN AMERICA DEL SUR**

---

**A.M. DIAZ<sup>1</sup>, J.C. AREITIO<sup>1</sup>, A.E. NEBEL<sup>1</sup>**

La producción de anticuerpos monoclonales específicos contra determinantes antigénicos de la nucleocápside y de la glicoproteína del virus rábico ha permitido demostrar diferencias importantes entre ambas.<sup>1,2</sup>

Actualmente se dispone de paneles de anticuerpos monoclonales antinucleocápside y antiglicoproteína que se utilizan para: i) caracterizar antigénicamente cepas de virus fijos empleadas en la producción de vacunas, ii) conocer la estabilidad genética de cepas de virus rábicos; iii) realizar estudios epidemiológicos para determinar la distribución geográfica de cepas virales y su asociación con determinadas especies animales, identificar el origen de la exposición de personas y/o animales al virus rábico, y estudiar, eventualmente, la influencia potencial que las características antigénicas de los virus rábicos podrían tener en el control de la enfermedad.<sup>3,4,5</sup>

### **CARACTERIZACION ANTIGENICA DE VIRUS RABICOS AISLADOS DE MURCIELAGOS HEMATOFAGOS EN AMERICA DEL SUR**

A comienzos de la década del 80, varios laboratorios del mundo comenzaron a producir paneles de anticuerpos monoclonales con el fin de utilizarlos en estudios epidemiológicos, entre ellos, el CDC (Centers for Disease Control), de Atlanta, E.U.A., donde Smith y col.<sup>4</sup> prepararon un panel de anticuerpos monoclonales anti-nucleoproteína (AcM-N) del virus rábico a partir de ratones inmunizados con virus ERA. Mediante el uso de la técnica de inmunofluorescencia seleccionaron un panel de 20 anticuerpos monoclonales que permite

---

<sup>1</sup> Centro Panamericano de Zoonosis del Programa de Salud Pública Veterinaria OPS/OMS.

caracterizar y agrupar cepas de virus rábicos que difieren antigénicamente del virus ERA, y estudiar su distribución y transmisión en la naturaleza. Después de analizar más de 400 aislamientos de mamíferos de seis áreas enzoóticas de América del Norte, identificaron cuatro patrones de reactividad: i) un patrón característico de mamíferos terrestres de áreas del NNE de los E.U.A., donde los zorros colorados son la especie transmisora predominante. Un patrón idéntico se observó en aislamiento de zorros árticos (Alaska y territorios del Noroeste del Canadá); ii) un patrón característico de las zonas atlántica central y sudeste de los E.U.A., donde la especie transmisora predominante es el mapache; iii) dos patrones de reactividad de la zona en la que el zorrino es el transmisor: uno corresponde a la zona de los estados centrales del norte de los E.U.A. y a California, y otro a los estados centrales del sur; iv) en Texas y Arizona se pudieron identificar dentro del área de la rabia en zorrinos, pequeñas regiones de rabia enzoótica en zorros grises, que no fueron detectadas por los mecanismos normales de vigilancia epidemiológica.

En el Centro Panamericano de Zoonosis hemos formado un banco de cepas de virus rábicos aisladas en países de América Latina y el Caribe para lo cual contamos con el aporte de muestras que los países nos envían y a los cuales ofrecemos servicio de referencia. El banco se organiza según un sistema computadorizado que permite registrar datos epidemiológicos y resultados de las pruebas de laboratorio. Las cepas se identifican con números en código y se mantienen liofilizadas. Actualmente contamos con 240 cepas aisladas de 11 países de la región, de las cuales el 50% han sido analizadas con el mismo panel de anticuerpos monoclonales que utiliza el CDC para caracterizar y comparar antigénicamente las cepas de virus rábicos de la región de las Américas. Esta actividad se realiza en colaboración con esa institución.

Hasta el presente hemos identificado un patrón típico de las cepas aisladas de perros (Cuadro 1) y otro correspondiente a vampiros (Cuadro 2). En el Cuadro 3 se observan los resultados de la caracterización de cepas aisladas en Desmodus rotundus de 1960 a 1989 en distintos países y circunstancias. El patrón de reactividad permaneció invariable, lo que sugeriría que la composición antigénica es característica de los virus rábicos aislados de este género de murciélago.

Se han encontrado virus "específicamente" adaptados en otras especies animales, incluyendo perros, mapaches y murciélagos no hematófagos. Estos virus especializados se pueden reconocer por pruebas de inmunidad cruzada y de patogenicidad, y a menudo, porque están asociados con patrones de reactividad antigénica muy estables. Blancou y col.<sup>6</sup> han sugerido denominar a estos virus especializados "biotipos". Se ha comprobado que los subpasajes de estos biotipos en otras especies o en cultivos celulares no afectan de manera inmediata sus características antigénicas.

Cuando Smith y col.<sup>4</sup> analizaron virus rábicos aislados no sólo de las cuatro especies transmisoras más importantes de los E.U.A., sino también de otras especies de las mismas áreas, observaron que los patrones de reactividad no habían variado durante períodos de tiempo que oscilaron entre 8 y 19 años.

Ruprecht y Dietzschold<sup>7</sup> confirmaron la estabilidad antigénica de subtipos de virus calle después de: i) pasajes sucesivos via intracerebral en animales de laboratorio, zorros, zorros y murciélagos; ii) subcultivo en células BHK-21 y NA (mínimo 60 pasajes continuos); iii) reisolamiento de los mismos subtipo, entre 1982 y 1988 en Pennsylvania. Por todo ello, consideran que antigénicamente la proteína viral N parece ser la más estable de las cuatro proteínas estructurales del virus rábico. En consecuencia, los patrones de reactividad antigénica frente a AcM-N se pueden utilizar para identificar "in vitro" nuevas variantes de virus relacionadas con biotipos conocidos de otras especies (perros, gatos, zorros, etc.) a fin de determinar, por ejemplo, el origen de una nueva epizootia o foco de la enfermedad.

En cuanto a la composición antigénica de virus rábicos aislados de murciélagos no hematófagos de América del Norte, Smith y col.<sup>4</sup> utilizando el mismo panel de AcM-N identificaron cinco patrones de reactividad en cuatro de las especies más comunes en los E.U.A.: Tadarida brasiliensis mexicana, Lasiurus borealis, Lasiurus cinereus y Eptesicus fuscus. Esos patrones de reactividad sugieren que los ciclos de rabia se producirían de manera independiente en cada especie de murciélagos y que estos virus producen enzootias no relacionadas con las de los animales terrestres de las seis zonas enzoóticas mencionadas más arriba. Sin embargo, se considera que ocasionalmente murciélagos no hematófagos pueden transmitir rabia a animales terrestres puesto que se han observado casos de rabia en gatos y zorros provocados por virus con patrones antigénicos iguales a los de murciélagos no hematófagos.

En el Cuadro 4 se observa que el patrón de reactividad de virus rábicos de origen vampiro aislados en América del Sur difiere de los correspondientes a murciélagos no hematófagos de América del Norte.

#### CONCLUSIONES

Los datos presentados en este informe sugieren la conveniencia de intensificar el aislamiento y la caracterización de los virus rábicos de origen murciélagos (hematófagos y no hematófagos) de América del Sur, donde cada vez son más frecuentes los casos de exposición a rabia por mordedura de estas especies.

La incorporación de técnicas de caracterización de virus por AcM-N a los sistemas de vigilancia epidemiológica facilita el conocimiento del origen y la distribución de biotipos de virus rábicos.

Cuadro 1

Anticuerpos Monoclonales\*. Caracterización de virus rábicos aislados de perros en América Latina y el Caribe 1987 - 1990.

América (1987-90)	Nº Aislamiento	HIBRIDOMAS Nº																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Sur	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Central	21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Caribe	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
México ** (1983-86)	19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Virus ERA	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

\* Panel de Anticuerpos Monoclonales anti-nucleocápside (CDC-USA)

\*\* Smith, J.S. Review of Inf. Dis. vol. 10, suppl. 4, 1988: S637-S643

Cuadro 2

Anticuerpos Monoclonales\*. Caracterización antigénica de virus rábico de origen vampiro aislados de distintos huéspedes en América del Sur.

Huespedes	País	HIBRIDOMAS Nº																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Bovino (8) (1986-89)	Paraguay	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Venezuela	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Vampiro (patrón)		-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Humana (2) (1990)	Perú	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	Virus ERA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

\* Panel de Anticuerpos Monoclonales anti-nucleocápside (CDC-USA)

Cuadro 3

Anticuerpos Monoclonales\*. Caracterización antigénica de virus rábico de origen vampiro aislados en América del Sur

Vampiro	País	HIBRIDOMAS Nº																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
DR-19 (1960)	Brasil	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
APIPE (1972)	Argentina	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
V-85	Venezuela	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
Virus ERA		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

\* Panel de Anticuerpos Monoclonales anti-nucleocápside (CDC-USA)

Cuadro 4

Anticuerpos Monoclonales\*. Caracterización antigénica de virus rábico aislados de murciélagos en las Américas

Murciélagos	Región	HIBRIDOMAS Nº																			
		1	2	3	5	7	8	10	11	12	13	15	16	17	18	19	Nº				
T. brasiliensis mexicana	América del Norte	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	20
L. cinereus		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	0	+	+	-	-	-	16
L. borealis		-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	0	+	+	-	-	-	17
E. fuscus fuscus		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	27
		-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	6
		-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	2
Eptesicus fuscus pallidus		+	+	-	0	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
		-	+	-	0	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
		-	+	-	0	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
		-	+	-	0	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
		-	+	-	0	+	-	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	1
D. rotundus	South America	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	3

\* Panel de Anticuerpos Monoclonales anti-nucleocápside (CDC-USA)

## REFERENCIAS

1. **Wiktor, T.J., Flammand, A. and Koprowski, H., 1980.** Use of monoclonal antibodies in diagnosis of rabies virus infection and differentiation of rabies and rabies related viruses. *J. Virol. Methods*, 1;33-46.
2. **Schneider, L.G., 1982.** Antigenic variants of rabies virus. *Comp. Immuno. Microbiol. Inf. Dis.*, 5:101-107.
3. **Sureau, P., Rollin, P.E., Lafon, M., 1984.** Characterization of rabies virus strains used for vaccine production by means of monoclonal antibodies. *Develop. biol. Standard.*, 57:231-277.
4. **Smith, J.S., Sanderlin, D.W., P.A., 1989.** The application of monoclonal antibodies to epidemiologic studies of Lyssavirus. *In: Thraenhardt, O., Koprowski H., Bogel, K., Sureau, P., Eds., Progress in Rabies Control.* Wells Medical, England, pp. 115-125.
5. **Sureau, P., Rollin, P. and Wiktor, T.J., 1983.** Epidemiologic analysis of antigenic variants of street rabies virus: detection by monoclonal antibodies. *Am. J. Epidemiol.*, 117: 605-609.
6. **Blancou, J.,** Ecology and epidemiology of fox rabies. 1988. *Rev. Inf. Dis.*, 10, Suppl. 4, 5606-5609.
7. **Rupprecht, C.E. Diestzschold, B., 1989.** Antigenic diversity of Lyssavirus: Implications for epidemiology and control. *In: Thraenhardt, O., Koprowski, H., Bogel, K., Sureau, P., Eds. Progress in rabies control.* Wells Medical, England, pp. 79-84.