

Diagnóstico del virus rábico en quirópteros

Rabies virus diagnosis in bats

Lic. Dámasa Irene López Santa Cruz, Dra. Jusayma González Arrebato,
Dra. Martha Morales Leslie

Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: los quirópteros son un importante reservorio y vector del virus rábico en el mundo. La enfermedad invariablemente lleva a la muerte, pero puede ser prevenida mediante la vacunación.

Objetivo: detectar virus rábico a través de la técnica de inmunofluorescencia directa en quirópteros.

Métodos: en el Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología de la Provincia La Habana en el período de 2004 a 2009, se recibieron 651 muestras de cerebros de quirópteros para detectar el virus de la rabia. Se analizaron empleando el método de inmunofluorescencia directa.

Resultados: la presencia del virus se confirmó en 5 muestras de cerebro de murciélagos. Se obtuvo 0,76 % de positividad.

Conclusión: se demuestra que en Cuba circula el virus de la rabia en murciélagos y que aunque el porcentaje de positividad es bajo, se deben tomar las precauciones establecidas cuando se observen cambios de conducta en esta especie.

Palabras clave: rabia, quirópteros, Cuba, inmunofluorescencia directa.

ABSTRACT

Introduction: the bats are an important reservoir and vector of rabies virus in the world. The infection invariably leads to death, but can be prevented with vaccination.

Objective: to detect rabies virus through direct immunofluorescence in bats.

Method: the provincial Center of Hygiene, Epidemiology and Microbiology of Havana received 651 bat brain samples from 2004 to 2009 to test for rabies virus, using the direct immunofluorescence method.

Results: the presence of virus was confirmed in 5 bat brain samples. Positivity rate was 0.76 %.

Conclusions: it was demonstrated that rabies virus circulates in Cuba in bats and that although the positivity rate is low, so the established precautions should be taken when behavioral changes are observed in this species.

Key words: rabies, bats, Cuba, direct immunofluorescence.

La rabia es una zoonosis que afecta a todas las especies de sangre caliente, causada por un virus del género *Lyssavirus* que pertenece a la familia Rhabdoviridae. Este se transmite por la mordedura de un animal infectado a través de la entrada de saliva en la herida. Existen otras vías de infección: contacto con saliva infectada, tejido de un animal con rabia en una herida abierta o mucosa, grandes cantidades de virus en aerosoles y por trasplantes de córnea de pacientes infectados. La infección de la rabia invariablemente lleva a la muerte, aunque puede ser prevenida con el uso de la vacuna antirrábica.¹

En América Latina, la rabia es un importante problema de salud, sobre todo en animales silvestres.² Frecuentemente el virus rábico se ha aislado de quirópteros hematófagos, aunque también se han visto casos de transmisión relacionados con insectívoros y frugívoros.³

Debido a la peculiaridad que los quirópteros poseen en las glándulas salivales, pueden padecer la enfermedad sin presentar signos aparentes durante 1 a 2 años, permaneciendo el virus en la saliva durante un tiempo variable, con valores extremos entre 9 y 171 días. Estas especies tienen hábitos migratorios, en el caso de alguna de ellas su radio de vuelo abarca aproximadamente más de 100 km, lo cual propicia la transmisión del virus rábico a grandes distancias.⁴

En el Laboratorio Nacional de Tampa en el estado de la Florida, se reportó por primera vez el virus rábico en quirópteros insectívoros en 1953; posteriormente, se encontró en 24 estados de los EE. UU.^{5,6} En Cuba el primer caso notificado de rabia en murciélagos fue en 1979.^{7,8}

En Cuba hay murciélagos insectívoros, frugívoros, y piscívoros, que pueden estar infectados con el virus de la rabia,⁹ por lo que se realizó la detección del virus rábico por la técnica de inmunofluorescencia directa en muestras de quirópteros que llegan al Laboratorio del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) en La Habana, desde enero de 2004 a diciembre de 2009.

Se realizó un estudio retrospectivo, con el análisis un total de 651 muestras de cerebros de quirópteros, 629 por vigilancia epidemiológica (VE) y 22 por animales lesionadores (AL), provenientes de las provincias del país desde enero de 2004 hasta diciembre de 2009 en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de la provincia La Habana.

Las muestras se colectaron en frascos con tapa de rosca y se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento, los cerebros que se recibieron en glicerina 50 % como medio de preservación; se lavaron varias veces con agua destilada estéril para evitar interferencia en el desarrollo de la técnica.

Para el diagnóstico se utilizó el método de inmunofluorescencia directa (IFD), que es la técnica de oro recomendada por el Comité de Expertos en Rabia de la Organización Mundial de la Salud (OMS), utilizando el conjugado comercial anti-nucleocápside rábico (BIORAD-Francia).¹⁰

Se preparó un frotis con cerebro de murciélagos en láminas portaobjetos, con un control positivo y otro negativo; se secó a temperatura ambiente, luego se le añadió el conjugado antirrábico diluido (1:10); incubándose a 37 °C durante 30 min en cámara húmeda. Las láminas se lavaron con una solución *buffer* como tampón (PBS) 1X (NaCl 100 mM, KCl 2 mM, Na₂HPO₄ 10 mM, K₂HPO₄ 1 mM) con pH 7,2 durante 10 min y seguidamente un segundo lavado con agua destilada durante 3 min.¹⁰ En las muestras positivas debe observarse fluorescencia de color verde manzana brillante sobre un fondo oscuro.¹⁰

Para detectar la presencia de antígeno viral en la muestra se utilizó un microscopio de fluorescencia (Leitz, Alemania) con fuente de luz ultravioleta, condensador de campo oscuro, objetivo 40X y una gota de glicerina (Sigma) como aceite de inmersión.¹⁰

Se consideró positiva toda muestra que presentó al menos un foco fluorescente en alguna de las impresiones y como negativas, ausencia de fluorescencia.

Para el procesamiento de la información se utilizaron las aplicaciones de Microsoft Office Excel 2003.

Todo el trabajo se realizó en cabina de seguridad biológica clase II, teniendo en cuenta el nivel de riesgo biológico de la muestra según la legislación nacional (Resolución 38/06 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, CITMA).

En la tabla se puede observar que de 651 muestras de cerebros de quirópteros estudiados se detectó un caso positivo por año, excepto en 2006, que no se recibieron muestras, con un total de 5 pruebas positivas para 0,76 %; además se percibió aumento de las muestras recibidas en 2008 con un total de 342 cerebros de quirópteros.

Tabla. Muestras estudiadas por inmunofluorescencia directa y porcentaje de positividad

Años	Total	Positivos	%
2004	176	1	1,3
2005	70	1	1,4
2006			
2007	16	1	6,25
2008	342	1	0,3
2009	47	1	2,1
Total	651	5	0,76

Fuente: Laboratorio de rabia. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, La Habana.

De 629 muestras recibidas por vigilancia epidemiológica (VE), realizadas en el país, 3 pruebas fueron positivas para 0,47 % de positividad y 22 muestras por animales lesionadores, con 2 positivas para 9,09 %.

En Cuba hay circulación de virus rábico en murciélagos, aunque no existen quirópteros hematófagos. según lo planteado por diferentes autores, son los más propensos a la transmisión de la rabia por su forma de alimentación, existiendo circulación del virus en quirópteros no hematófagos tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo.¹¹⁻¹⁷

Los quirópteros insectívoros son uno de los principales reservorios de virus rábico en varias regiones del mundo, porque durante la vigilancia se identificaron murciélagos insectívoros y frugívoros positivos,¹⁴ demostrándose que tanto los quirópteros insectívoros como los frugívoros pueden ser transmisores del virus rábico.^{3,12-16}

A pesar de no observarse una positividad elevada es de gran importancia conocer la circulación viral en esta especie, debido al papel de los murciélagos como transmisores de rabia. En la actualidad los murciélagos no hematófagos constituyen gran importancia epidémica en la transmisión de la rabia a los humanos. La interacción que puedan tener los humanos y los animales domésticos incrementa el riesgo de contraer la enfermedad.¹⁷

En 2008 el envío de muestras al laboratorio es mayor, esto pudiera ser debido a un aumento en la población de murciélagos o su desplazamiento a áreas urbanas debido a la degradación de sus áreas naturales, por lo que aumenta la vigilancia epidemiológica, una de las medidas del programa de salud para el control de la rabia.⁴

Se obtuvo una positividad de 0,47 % por VE, esto puede ser por la captura de murciélagos sanos durante el vuelo o en hábitats específicos. En el caso de las muestras clasificadas como AL, la positividad es de 9,09 % (más elevada); esto se debe a que los ejemplares rabiosos suelen ser torpes, desorientados e incapaces de volar, lo cual aumenta la probabilidad de que entren en contacto con las personas y sea posible la transmisión de la enfermedad, así como el riesgo de ser capturados con más facilidad.¹⁸ La infección de la rabia en los murciélagos puede ocurrir durante la interacción entre ellos, quizá por los refugios que comparten, mediante transferencia transplacentaria y beber leche infectada de la madre con virus rábico.¹⁹

Por todo lo antes expuesto, no se debe sentir temor a estos animales, es conveniente evitar manipularlos o tenerlos en lugares habitados, al igual que con cualquier animal salvaje. Si una persona es lesionada por un murciélago, debe recibir asistencia médica inmediata para descartar la posibilidad de que haya sido infectada. En Cuba está establecido un programa de vacunación para las personas lesionadas por animales salvajes.²⁰

Estos resultados muestran la necesidad de orientar a la población a no manipular directamente a los murciélagos, sobre todo cuando se encuentran en el suelo, dentro de casas habitadas o escuelas, así como la importancia de mantener actualizada la vacunación de animales domésticos (perros y gatos).

Se puede concluir que en Cuba existe circulación del virus rábico en murciélagos no hematófagos, y que a pesar de que el porcentaje de positividad de esta enfermedad es bajo, se deben tomar las precauciones establecidas con los ejemplares que

exhiban cambio de conducta como desorientación al volar, caídos en el suelo o que penetren desorientados en casas habitadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mattila L, Kolho E, Vapalahti O, Huovilainen A, Kanerva M, Järvinen A, et al. Rabies Duodecim. 2010;126(4):418-25.
2. Almeida MF, Martorelli LF, Sodré MM, Kataoka AP, Rosa AR, Oliveira M, et al. Rabies diagnosis and serology in bats from the State of Sa?o P?aulo, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2011;44(2):140-5.
3. Menezes da Silva LA, Martins JL, de Lima M, de Brito VI, Soares de Melo R, Pimentel L, et al. Rabies virus in *Molossus molossus* (Chiroptera: Molossidae) in the State of Pernambuco, Northeastern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2011;44(4):526-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822011000400027>
4. Ministerio de Salud Pública (MINSAP) Programa Nacional de Prevención y Control de la Rabia. La Habana: MINSAP; 1997 [citado 9 Ene 2011]. Disponible en: <http://files.sld.cu/sida/files/2012/01/programa-rabia.pdf>
5. Avery RJ, Tailyour JM. The isolation of the rabies virus from insectivorous bats in British Columbia. Can J Comp Med Vet Sci. 1960;24(5):143-6.
6. Vos A, Kaipf I, Denzinger A, Fooks A R, Johnson N, Müller T. European bat lyssaviruses-an ecological enigma. Acta Chiropterologica. 2007;9(1):283-96.
7. Silva G, Herrada M. Primer caso comprobado de rabia en un murciélago de Cuba. Poeyana 1979;126:1-4.
8. Suárez M, Salcedo E. Mensajes educativos transmitidos por afiches sobre zoonosis en la provincia Ciego de  vila, Cuba (parte 1). Colegio Médico Veterinario de la Provincia de Córdova [citado 9 Ene 2011]. Disponible en: <http://www.covetcba.com.ar/verarticulo.asp?id=258>
9. Silva G. Los Murciélagos de Cuba. La Habana: Editorial Academia; 1979. p. 23.
10. Dean DJ, Abelseth MK, Atanasiu P. The fluorescent antibody test. En: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, editors. 4th ed. Chapter 7. Laboratory techniques in rabies. Geneva: World Health Organization; 1996. p. 88-95.
11. Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. Clin Microbiol Rev. 2006;19(3):531-45.
12. Scheffer KC, Carrieri ML, Albas A, Santos HC, Kotait I, Ito FH. Rabies virus in naturally infected bats in the State of Sao Paulo, Southeastern Brazil. Rev Saude Publica. 2007;41(3):389-95.
13. Gury Dohmen F, Beltrán F. Aislamiento del virus rábico en gl ndulas salivales de murciélagos insectívoros Rev Sci Tech Off Int Epiz. 2009;28(3):987-93.

14. Dzikwi AA, Kuzmin II, Umoh JU, Kwaga JK, Ahmad AA, Rupprecht CE. Evidence of Lagos bat virus circulation among Nigerian fruit bats. *Wildl Dis.* 2010;46(1):267-71.
15. Albas A, Souza EA, Picolo MR, Favoretto SR, da Gama AR, Sodr  MM. The bats and rabies in the Western region of the State of S o Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(2):201-5.
16. Ru  M, Chávez CB. Rabies in Latin America. *Neurol Res.* 2010;32(3):272-7.
17. Johnson N, Vos A, Freuling C, Tordo N, Fooks AR, M ller T. Human rabies due to lyssavirus infection of bat origin. Veterinary Laboratories Agency-Weybridge, Surrey, United Kingdom. 2010;142(3-4):151-9.
18. Rosa AR, Kataoka AP, Favoretto SR, Sodré MM, Trezza Netto J, Campos AC, et al. First report of rabies infection in bats, *Molossus molossus*, *Molossops neglectus* and *Myotis riparius* in the city of São Paulo, State of São Paulo, southeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(2):146-9.
19. Banyard AC, Hayman D, Johnson N, McElhinney L, Fooks AR. Bats and lyssaviruses. *Adv Virus Res.* 2011;79:239-89.
20. Dotres C. Programa de Nacional de Control de la Rabia. 3^{ra} versión. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 1998.

Recibido: 18 de noviembre de 2011.

Aprobado: 9 de abril de 2012.

D masa Irene López Santa Cruz. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Calle 102 e/ 31 y 33. Marianao. La Habana, Cuba. Correo electrónico: damasalopez@infomed.sld.cu