

Artículo reseña

LOS MODELOS ANIMALES EN LA EVALUACIÓN PRECLÍNICA DE ANTIVIRALES CONTRA LOS VIRUS DEL HERPES SIMPLE

Suria M. Valdés*, Á.L. Álvarez* y Gloria del Barrio^{1*}

Grupo de Antivirales Naturales, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba
Correo electrónico: ¹gbarrio@infomed.sld.cu

RESUMEN: La familia *Herpesviridae* agrupa patógenos de importancia tanto para la salud humana como animal. Las manifestaciones clínicas causadas por estos virus abarcan desde afecciones cutáneas relativamente leves hasta patologías más graves como la encefalitis. El único método actualmente disponible para controlar estas infecciones es la quimioterapia antiviral. Las metodologías de búsqueda de antivirales llevan implícito la realización de ensayos farmacológicos tanto a nivel *in vitro* como *in vivo*. Estos últimos son los llamados modelos animales que brindan información exclusiva sobre la respuesta del organismo a la infección viral. En el presente trabajo se presenta una revisión actualizada sobre los modelos *in vivo* que son utilizados dentro de la evaluación preclínica de compuestos inhibidores en la multiplicación de los virus de herpes simples (HSV-1 y HSV-2).

(Palabras clave: herpes simple; modelos animales; hospedero; latencia)

ANIMAL MODELS IN PRECLINICAL EVALUATION OF ANTIVIRAL DRUGS AGAINST HERPES SIMPLEX VIRUS

ABSTRACT: The *Herpesviridae* family includes pathogens infecting animals as well as humans. The symptomatology associated to these infections varies from mild skin vesicular lesions to severe illness, like viral encephalitis. Nowadays, the only available approach to control them consists of antiviral chemotherapy. The methodology to search for antiviral compounds involves both *in vitro* and *in vivo* pharmacologic assays. The *in vivo* assays are carried out in animal models and give exclusive information about host responses to viral infection. The present work reviews the up-to-date knowledge about *in vivo* models used in preclinical evaluation of both HSV-1 and HSV-2 inhibitors.

(Key words: herpes simplex virus; animal models; host; latency)

INTRODUCCIÓN

Los llamados modelos *in vivo* o modelos animales, constituyen sistemas experimentales de gran utilidad en la investigación, por cuanto permiten la aplicación de técnicas de análisis que no pueden emplearse en el hombre por razones éticas. Por otra parte, estos modelos brindan informaciones que no pueden ser obtenidas mediante técnicas *in vitro* como los cultivos celulares, donde los resultados experimentales no siempre reproducen lo que ocurre en el organismo como un todo (1).

En las investigaciones farmacológicas los ensayos con animales de experimentación resultan imprescindibles para la búsqueda y aplicación de posibles medidas terapéuticas encaminadas tanto a la prevención como al tratamiento de la enfermedad. Estos ensayos, una vez realizados, permiten medir la eficacia y seguridad de determinado producto ya sea de origen sintético o natural (2).

Abordar la búsqueda de fármacos con efecto antiviral requiere hacer uso de modelos que reproduzcan la patología viral lo más similarmente posible

a como ocurre en el hospedero natural. Estos modelos, sin embargo, solamente consiguen aproximarse al cuadro clínico verdadero y su confiabilidad depende de tres factores fundamentales: la especie seleccionada, el estado inmunológico en que se encuentra el hospedero, y la ruta de inoculación preferente del virus con el que se pretende realizar la investigación. Para el caso particular de los virus de la familia *Herpesviridae*, a estos factores hay que agregar su capacidad de desarrollar una infección latente (3), que consiste en la propiedad del genoma viral de persistir por períodos de tiempo variables en un estado de relativa inactividad y baja expresión genética, lo cual le permite a estos virus escapar de los principales efectores de la respuesta inmunológica (4; 5).

Las infecciones producidas por los virus del herpes simple son la causa de lesiones vesiculares cutáneas, estomatitis, y en ocasiones pueden conducir a cuadros clínicos más severos como las encefalitis (6).

El presente trabajo aborda los principales modelos animales que se emplean para la evaluación preclínica de compuestos que se han mostrado activos frente a HSV en los ensayos previos de pesquisa de actividad antiviral en cultivos celulares (*in vitro*). Los ensayos en ambos tipos de modelos son etapas necesarias de la evaluación preclínica de productos con vistas a su aplicación en humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se consultaron, como fuentes primarias de información, artículos originales y comunicaciones cortas publicadas en revistas científicas indizadas en bases de datos internacionales como PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>) y SciELO (<http://www.scielo.org>). También se utilizó literatura proveniente de fuentes secundarias (libros de texto, artículos de revisión, monografías, tesis de grado y páginas web).

DESARROLLO

Características generales de los virus del herpes simple

Como el resto de los herpesvirus, los virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) y tipo 2 (HSV-2), (subfamilia *Alphaherpesvirinae*) presentan una molécula de ADN de doble cadena de gran tamaño como material genético. Son dos especies virales genéticas y morfológicamente muy relacionadas pero diferentes desde el punto de vista clínico y epidemiológico (6). HSV-1 se asocia con lesiones cutáneas localizadas por encima de la mitad del torso, como el herpes labial, las encefalitis, estomatitis, infecciones oculares y algunos casos de herpes generalizado. Es transmitido fundamentalmente por la saliva. En cambio, HSV-2 afecta principalmente a los genitales y áreas circundantes; también puede producir cuadros severos de encefalitis. Se puede transmitir por contacto directo durante el intercurso genital y también por la saliva. La transmisión madre-hijo durante los primeros 6 meses de vida del neonato es muy común. La relación entre la localización de las lesiones herpéticas y el tipo de virus no es absoluta, pudiéndose encontrar HSV-2 causando lesiones en la boca y HSV-1 en los genitales, aunque con una frecuencia menor (7).

Modelos de infección

Existen varios modelos animales que intentan reproducir la patogénesis herpesviral simulando diferentes cuadros clínicos de la infección. La Tabla 1 resume los principales sistemas hospederos que se emplean con este fin, las sintomatologías asociadas y la medida de cuantificación de las mismas durante el ensayo.

A continuación se presentan algunas especificidades de cada uno de estos modelos.

TABLA 1. Modelos de infección con HSV. / *Models of infection with HSV*

Virus	Modelo	Cuadro clínico	Medida de la infección
HSV-1	ratón	encefalitis	mortalidad, conducta
	conejo		
	conejo	enfermedad ocular	severidad de lesión, título viral
	curiel	lesión en piel	
	ratón	herpes genital	
curiel			
HSV-2	ratón	herpes neonatal diseminado	mortalidad
	ratón	encefalitis	
	curiel	herpes genital	severidad, título y recurrencia

Modelos de infección para HSV-1

El modelo de ratón para HSV-1 reproduce la encefalitis. Este modelo fue descrito inicialmente por De Clercq y Luczak (8). La patogénesis experimental de esta infección se caracteriza por una rápida diseminación del virus desde la nasofaringe hasta el nervio trigémino, luego de la inoculación intranasal, resultando en la muerte del animal por encefalitis aguda. Este mismo modelo, pero inoculando HSV-2 en lugar de HSV-1, permite reproducir la infección herpética en neonatos. Ha sido un modelo muy empleado en las evaluaciones preclínicas para fármacos anti-HSV (9).

La infección cutánea por HSV-1 que utiliza el modelo de curiel o cobayo, ilustra en gran medida lo que ocurre en el humano con el herpes labial (10). Luego de depilar un flanco del animal, se procede a escarificar el área e inocular. La infección que se produce, se caracteriza por un rápido desarrollo de vesículas que miden entre 3 y 5 mm de diámetro. La cicatrización de dichas lesiones tiene lugar entre los días 10 y 12 post-inoculación. El empleo de este modelo resulta algo engorroso por dos factores fundamentales que son, el tamaño, la difícil manipulación de los cobayos. La ventaja fundamental de este modelo es que los animales no desarrollan lesiones zosteriformes, ni mueren por complicaciones neurológicas, lo que sí ocurre cuando se emplean ratones. No obstante, el modelo de ratón resulta muy útil para estudios *in vivo* de eficacia antiviral de compuestos frente a HSV-1, según lo demostraron Lipipun *et al.* (11), quienes demostraron la efectividad de tres extractos de plantas sobre la disminución de las lesiones que caracterizan este tipo de infección.

Modelos de infección para HSV-2

Para estudiar infecciones genitales se emplean con mayor frecuencia los modelos basados en curieles y ratones hembras, inoculados por vía intravaginal con HSV-2. Este último resulta especialmente muy económico en comparación con el de curiel, por lo que ha sido muy usado para realizar pesquisas iniciales de drogas, determinación de dosis efectivas y regímenes de tratamiento frente a la replicación viral en la vagina de estos animales (12). Se ha comprobado que los resultados obtenidos en este modelo de ratón coinciden con los observados en la clínica. En contraste, este modelo resulta desventajoso, ya que el ratón frecuentemente puede morir de encefalomielitis aguda y no se producen las típicas lesiones en la piel de los genitales externos. Además no se manifiestan episodios de recurrencia espontáneos (13). Cuando se emplean curieles, luego de la inoculación intravaginal con HSV-2, el virus se replica

a títulos elevados en el tracto vaginal, y a menor escala en útero y cuello. El virus invade las vías nerviosas entre 24 y 36 horas, involucrando los ganglios dorsales y la médula espinal durante los días 2 y 3 horas post-infección. Desde los ganglios dorsales y/o la médula espinal, el HSV-2 desciende por vía nerviosa a la piel de los genitales, produciendo lesiones los días 3 y 4. La replicación de HSV-2 en la médula, puede causar parálisis y en caso de que alcance el cerebro, sobreviene encefalitis y la muerte. En este modelo de curiel, la latencia viral se desarrolla en los ganglios dorsales. Todos los animales infectados manifiestan recurrencia espontánea y desarrollan eritemas externos o vesículas. Las ventajas fundamentales sobre el modelo de ratón consisten en que los animales son susceptibles a este tipo de infección, la mortalidad es mínima a consecuencia de este proceso y permite estudiar la latencia viral característica con episodios de recurrencia, en el 100% de las unidades experimentales (14). Sin embargo, posee algunas desventajas dados su elevado costo, el espacio requerido y el cuidado adicional que requiere esta especie de animales. A pesar de los inconvenientes de ambos modelos, actualmente son muy empleados como herramientas de gran utilidad en diversas investigaciones (15).

Los modelos *in vivo* también pueden seleccionarse sobre la base de su similitud con las entidades clínicas producidas por herpesvirus en el hombre. En este sentido, pueden reproducir cuadros de queratitis herpética, lesiones cutáneas y genitales, así como la encefalitis herpética.

Lesiones oculares (queratitis y queratoconjuntivitis herpéticas)

Este modelo emplea conejos Nueva Zelanda de 2 Kg de peso aproximado. Luego de la inmovilización en cepo, se toma uno de los ojos como control de virus y el otro como unidad de ensayo para el tratamiento con el producto a evaluar, luego de la infección. La inoculación se realiza con 10^6 unidades formadoras de placas (u.f.p.) de HSV-1. A las 48 horas se comienza el tratamiento con soluciones de los compuestos a evaluar en forma de gotas o colirios en el ojo durante 5 días y transcurrido este tiempo se procede a cuantificar los síntomas clínicos. El otro método difiere del anterior en que antes de la inoculación se escarifica la córnea de ambos ojos, lo que garantiza mayor éxito de la infección. Este proceso produce un trauma ocular que asegura una puerta de entrada para el virus, seguidamente se inoculan alrededor de 10^8 u.f.p. del virus y a las 48 horas se procede a realizar el tratamiento durante una semana, pudiéndose emplear para ello el producto en forma de

ungüento tópico o de colirio (16). La cuantificación de las lesiones se realiza empleando una escala que va desde 0 hasta 5, para ello se divide la córnea en cuatro cuadrantes y se considera como grado 0 ausencia de lesión; grado 1 es la afectación de un cuadrante de la córnea y así sucesivamente los restantes números hasta el 4 se asocian al número de cuadrantes afectados, el 5 se considera daño máximo y total del área, el cual incluye también la secreción. Esta cuantificación es más precisa cuando se emplea un transiluminador para visualizar la lesión. Este modelo de conejo resulta muy ventajoso por cuanto se pueden visualizar y cuantificar mejor las lesiones dado el tamaño del ojo del animal con respecto a otras especies empleadas.

Como un caso particular de afección en la córnea, la queratitis herpética estromal puede ser reproducida por un modelo murino (17). Para ello, los ratones Balb/c de cinco a siete semanas de nacidos, son anestesiados con 2 mg de ketamina por vía intraperitoneal. La córnea del ojo derecho de cada animal se escarifica en ocho sitios mediante el empleo de una aguja 27 y seguidamente se inocula una suspensión que contiene alrededor de 10^4 u.f.p. de virus. La severidad de las lesiones en la córnea puede evaluarse clínicamente a los días 2, 4, 7, 11 y 16 post infección, empleando un sistema que tiene en cuenta la densidad del infiltrado inflamatorio, la neovascularización y la presencia de úlceras. El inconveniente principal de este modelo, expuesto por los propios autores, lo constituye la escarificación, que debe ser realizada con extremo cuidado, debido al pequeño tamaño de los ojos del animal. Siguiendo este diseño experimental Pifarré *et al.* (18) demostraron recientemente la actividad antiviral e inmunomoduladora de la meliacina, compuesto extraído del extracto crudo de hojas de la planta *Melia azedarach* L.

Lesiones genitales

Como ya ha sido tratado anteriormente, la especie que se emplea es el curiel hembra, con un peso corporal que oscila entre 350 y 550 g, se procede a la inoculación intravaginal de 10^5 ~ 10^6 u.f.p. de HSV-2. Transcurridas 4 h post-infección se procede al tratamiento con el producto escogido en forma de gel o ungüento, 2 veces al día durante 12 días. Al cabo de este tiempo, se procede a la cuantificación de las lesiones, una vez concluido el tratamiento, donde se consideran: vesículas, úlceras, pústulas, nivel de edema en vagina y retención urinaria. Como se mencionó previamente, este es un modelo que tiende espontáneamente a la recurrencia (19).

Lesiones cutáneas

En este caso se pueden emplear dos modelos con ratones. Un abordaje consiste en el uso de ratones machos desnudos, como bien es conocido este tipo de animal inmunodeficiente es muy empleado en las investigaciones biomédicas, específicamente relacionadas con estudios de oncología, enfermedades infecciosas, etc, además de que el hecho de carecer de pelo, facilita la formación de lesiones y evita el efecto irritante en ocasiones de la depilación necesaria cuando se trata de un ratón sin estas características. En este caso su peso corporal debe oscilar entre 15 y 25g. Estos son anestesiados con metoxifluorano e inmediatamente se les escarifica la región lumbar sobre la que se aplican 10^7 TCID₅₀ de HSV-1. De inmediato se retira el exceso de virus y transcurridos 4 días se cuantifican las lesiones, mediante un sistema de puntuación como se describe (20). Como es conocido este tipo de animal inmunodeficiente es muy empleado en las investigaciones biomédicas, específicamente relacionadas con estudios de oncología, enfermedades infecciosas, etc, además de que el hecho de carecer de pelo, facilita la formación de lesiones y evita el efecto irritante en ocasiones de la depilación necesaria cuando se trata de un ratón sin estas características.

En otro abordaje se emplean ratones machos no consanguíneos de tipo Balb/c, de 6 semanas de nacidos, a los cuales se les depila una de las patas traseras. Al cabo de 24 h se escarifica esta zona con agujas 27 y se aplican 10^6 u.f.p. de HSV-1. Pasadas 8 h se procede a administrar el producto, que puede ser en forma de ungüento o empleando otra vía. Se realizan 3 aplicaciones diarias durante 10 días, al cabo de los cuales se cuantifican las lesiones mediante el empleo de una puntuación desde 0 hasta 3, considerando: 0=no lesión, 1=vesículas localizadas en el sitio de aplicación, 2=el criterio considerado en 1 más la presencia de inflamación y 3=muerte del animal (21). Haciendo uso de este modelo se demostró la capacidad de un ungüento de *Phyllanthus orbicularis* H.B.K. de prevenir la aparición de lesiones herpéticas en el 60% de los ratones tratados, mientras que el 20% mostró lesiones sin inflamación (22).

Encefalitis herpética

En este modelo son muy usados los ratones de 20 a 25 g de peso corporal, inoculados por vía intracerebral con 100 LD₅₀ de HSV-1 y el tratamiento se lleva a cabo por vía subcutánea (2 ó 3 h transcurridas la infección). El tratamiento se continúa 2 veces por día durante 5 días y el tiempo de sobrevivencia se cuantifica a partir de los 14 días post-infección (23).

Existen también modelos de encefalitis herpéticas en ratones neonatos que brindan información muy valiosa sobre aspectos de la respuesta inmunológica a la infección por HSV (24).

Como se ha expresado anteriormente, se atribuyen a HSV-2 la mayoría de las lesiones herpéticas en neonatos, por lo que es muy importante establecer modelos de infección que reproduzcan este cuadro clínico en animales. En este sentido, el modelo de curiel recién nacido es el ideal para la evaluación de candidatos vacunales, antivirales y el empleo de terapia combinada con drogas de inmunomoduladoras. En este modelo los neonatos se inoculan con HSV-2 y se distribuyen en diferentes grupos experimentales con vistas a recibir el tratamiento correspondiente durante 10 días. Diariamente se observa y registran las lesiones cutáneas, la pérdida de peso, las alteraciones del sistema nervioso central y la muerte. Durante 45 días se realiza un seguimiento de la sobrevivencia, con vistas a evaluar la eficacia de la terapia sobre la incidencia y frecuencia de episodios de recurrencia con lesiones cutáneas.(25).

Resulta interesante el informe de los ensayos realizados en humanos con herpes genital y herpes labial por Rooney *et al.* (26). En este trabajo se induce la reactivación de herpes labial mediante exposición a la luz ultravioleta (524 nm). Este ensayo fue empleado en la evaluación de terapias antivirales y se constató que las lesiones se desarrollaron en el 70% de los voluntarios, después de 72 h de exposición.

CONSIDERACIONES FINALES

Es conocido que los llamados modelos de animales pequeños, entre los que se encuentran las principales especies seleccionadas para los ensayos descritos (ratón, cobayo y conejo), poseen varias ventajas para su empleo como son su disponibilidad, el bajo costo y la facilidad de manipulación(27). Por otra parte, la elección del biomodelo adecuado, constituye un aspecto ético, relacionado muy estrechamente con el

bienestar animal (28), en este sentido, existen principios éticos (29), que resultan de estricto cumplimiento durante el transcurso del experimento entre los que se encuentran:

- Posibilitar el mínimo de manipulaciones al animal y las intervenciones en su entorno, evitando perturbarlo o provocarle reacciones de alerta o refugio.
- Ofrecerle un entorno confortable y protegido en cuanto a agentes físicos, químicos y biológicos.
- Lograr la seguridad del confinamiento, evitando su escape o fuga, la penetración de otros animales, la exposición a daños y la ausencia de peligros.
- Las áreas de alojamiento de los animales deben ser específicas para este propósito y responder a los requerimientos establecidos, para la actividad de que se trate.
- Lograr los objetivos del experimento, validación con el mínimo de variables de tiempo y de animales.

A manera de resumen y como ha sido discutido anteriormente en este trabajo, podemos decir que el modelo de cobayo hembra, es empleado por excelencia para reproducir la infección por herpes simples tipo 2 por su similitud con los episodios de recurrencia en el humano. Si se trata de reproducir la infección por herpes simples tipo 1 debe seleccionarse un modelo de ratón hembra, que posibilita que la depilación, previa inducción de la lesión, permanezca intacta por la ausencia de hormonas masculinas. En el caso de la queratitis herpética, el modelo más usado es el de conejo por la facilidad de observación de la lesión en un ojo de mayor tamaño y finalmente, para reproducir cuadros clínicos más severos es recomendable el uso de ratones neonatos (Tabla 2).

La información brindada, pretende servir de guía para las investigaciones farmacológicas y virológicas que requieran el empleo de modelos animales como una etapa necesaria para la búsqueda de posibles productos con actividad antiherpética.

TABLA 2. Modelos de infección con HSV más empleados./ *Models of infection with HSV used more frequently*

Principales modelos	Indicadores evaluados	Referencia	
Ratón	Lesión cutánea (HSV-1)	(12), (13)	(14), (22)
Curriel	Infección genital y episodios de recurrencia (HSV-2)	(10), (15)	(19)
Conejo	Queratitis herpética (HSV-1)	(16)	(24)
Ratón	Queratitis estromal herpética (HSV-1)	(17)	(18)
Ratón neonato	Encefalitis herpética	(25)	

REFERENCIAS

1. Field HJ. Animal models in the evaluation of antiviral chemotherapy. Antiviral agents in the development and assessment of antiviral chemotherapy. Boca Ratón: CRC Press, Inc. 1988: 67-84.
2. <http://www.medicinabuenosaires.com/vol156-96/5/animalesdexp.htm>. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
3. Herpes simplex viruses. En: Knipe DM, Howley PM (Eds.), Field Virology. 4ta. ed. Capítulo 73. Lippincott Williams & Wilkins. Interactive Cardinal, LLC. Edina, MN. 2001.
4. del Barrio G, Caballero O, López M, Fernández T. En: Virología. Capítulo V. Nomenclatura y clasificación. 1990:128-148.
5. Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex viruses: is a vaccine tenable? J Clin Invest. 2002;109:145-151.
6. Llop A, Valdesdapena M, Zuazo JL. En: Microbiología y parasitología médicas. t. II. Capítulo 61. Herpesvirus. 2001; 110-141.
7. Lennette EH. En: Manual de Microbiología y Parasitología Médica. Capítulo 75. Virus del herpes simplex. 1982; 936-943.
8. De Clercq E, Luczak M. Intranasal challenge of mice with herpes simplex virus: an experimental model for evaluation of the efficacy of antiviral drugs. J Infect Dis. 1976; 133 Suppl:A226-A236.
9. Tolo FM, Rukunga GM, Muli FW, Njagi EN, Njue W, Kumon K, et al. Anti-viral activity of the extracts of a Kenyan medicinal plant *Carissa edulis* against herpes simplex virus. J Ethnopharmacol. 2006;104(1-2):92-99.
10. Oxford JS, Kelly LS, Davies S, Lambkin R. Herpes simplex guinea pig model. En: Cann, A. (Ed.). Virus Culture: a Practical approach. Capítulo 8. Antiviral testing. Oxford University Press. 1999; 201-238.
11. Lipipun V, Kurokawa M, Suttisri R, Taweechotipatr P, Pramyothin P, Hattori M, et al. Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection in vitro and in vivo. Antiviral Res. 2003;60(3):175-180.
12. Thapa M, Carr DJ. Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)-induced mortality following genital infection is blocked by Anti-TNF-(alpha). Antibody in CXCL 10. Deficient (CXCL10-/-)Mice. J. Virology. 2008 Aug 6. PMID:18684827.
13. Bird MD, Chu CF, Johnson AJ, Miligan CN. Early resolution of herpes simplex virus type 2 infection of murine genital tract involves stimulation of genital parenchymal cell by gamma interferon. J Virol. 2007;81(1):423-6. Epub 2006. Oct 25.
14. Baba M. Advances in antiviral chemotherapy. Virus; 2005;55(1):69-75. Review Japanese. PMID: 16308532.
15. Blakeney S, Kowalski J, Tummolo D, DeStefano J, Cooper D, Guo M, et al. Herpes simplex virus type 2 UL24 gene is a virulence determinant in murine and guinea pig disease models. J Virol. 2005;79(16):10498-10506.
16. Barsam CA, Brick DJ, Jones C, Wechsler SL, Pemp GC. A viral model for corneal scarring and neovascularization following ocular infection of rabbits with a herpes simplex virus type 1 (HSV-1) mutant. Cornea. 2005;24(4):460-466.
17. Alche LE, Berra A, Veloso MJ, Coto CE. Treatment with meliacine, a plant derived antiviral, prevents the development of herpetic stromal keratitis in mice. J Med Virol. 2000;61(4):474-480.
18. Pifarre MP, Berra A, Coto CE, Alche LE. Therapeutic action of meliacine, a plant-derived antiviral, on HSV-induced ocular disease in mice. Exp Eye Res 2002;75(3):327-334.
19. Jennings R, Smith TL, Myhren F, Phillips J, Sandvold ML. Evaluation of a novel, anti-herpes simplex virus compound, acyclovir elaidate (P-4010), in the female guinea pig model of genital herpes. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43(1):53-61.
20. Kern ER. Preclinical evaluation of antiviral agents: *in vitro* and model testing. Antiviral agents and viral diseases of man. Raven Press, Ltd. NY. 1999.
21. Kurokawa M, Ochiai H, Nagasaka K, Neki M, Xu H, Kadota S, et al. Antiviral traditional medicines against herpes simplex virus (HSV-1), poliovirus, and measles virus in vitro and their therapeutic

- eficacias for HSV-1 infection in mice. *Antiviral Res.* 1993;22(2-3):175-188.
22. Garcia SV, del Barrio AG, Gaiten YG, Diaz LM. Evaluación preliminar de la actividad antiviral del extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* frente al virus VHS-1. *Rev Cubana Med Trop.* 2003;55(3):169-173.
23. Sergerie Y. Delayed glucocorticoid administration induces neuroprotection in a murine model of herpes simplex virus encephalitis. Resúmen de Comunicaciones en II Conferencia de Infecciones Virales. 45 ICAAA, Washington, dic. 16-19. 2005.
24. <http://www.INTA.gov.ar/virologia/investiga/invest.htm>. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
25. Kumaraswamy GK, Fu MM, Docherty JJ. Innate and adaptive host response during the initial phase of herpes simplex virus encephalitis in the neonatal mouse. *J Neurovirol.* 2006;12(5):365-374.
26. Rooney JF, Bryson Y, Mannix ML, Dillon M, Wohlenberg CR, Banks S, et al. Prevention of ultraviolet-light-induced herpes labialis by sunscreen. *Lancet* 1991;338(8780):1419-1422.
27. González EE, Vázquez DM, Duarte CA. Modelos animales para VIH/Sida: ¿la clave para una vacuna? *Biotecnología Aplicada.* 2001;18(2):67-75.
28. Concepción AR, de la Peña R, García J. Acercamiento al accionar ético-moral del científico que trabaja con animales de experimentación. *Acta Bioética* 2007;13(1). ISSN 1726-569X *versión on line.*
29. De la Peña. Problemas que afectan el Bienestar de los animales de laboratorio en procesos investigativos. I Forum Tecnológico Especial de la Ciencia de los Animales de Laboratorio. CENPALAB, 7-10 octubre, 2004.

(Recibido 20-6-2008; Aceptado 4-2-2009)

¿QUIÉNES PUBLICAN EN NUESTRA REVISTA?

DESDE EL EXTRANJERO

- LABORATORIO MANEJO REPRODUCCION ANIMAL UNAM-MÉXICO
- DEPARTAMENTO PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL UNAM-MÉXICO
- FACULTAD MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNIVERSIDAD SAO PABLO BRASIL
- DEPARTAMENTO CIENCIAS BIOLÓGICAS CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS CINVESTAV MÉXICO DF
- SECTOR DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIVERSIDAD FEDERAL DE PARANÁ CURITIBA BRASIL
- UNIVERSIDAD VERACRUZANA XALAPA VERACRUZ

DE CUBA

- CENPALAB
- LABIOFAM
- UNAH
- UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CUBA
- UNIVERSIDAD DE CIENFUEGOS
- CIGB
- CIGB CAMAGÜEY
- FACULTAD DE BIOLOGÍA UH
- ESTACION PASTOS Y FORRAJE "INDIO HATUEY"
- INSTITUTO MEDICINA VETERINARIA CUBA
- INSTITUTO MEDICINA VETERINARIA GUANTÁNAMO
- CENTRO DESARROLLO MONTAÑA EL SALVADOR GUANTÁNAMO
- EMPRESA GENÉTICA AVÍCOLA Y PIE DE CRÍA
- INSTITUTO CUBANO DE INVESTIGACIONES AZUCARERAS
- CENSA