

INMUNOPROFILAXIS ANTIRRÁBICA EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS

ANTIRABIC IMMUNOPROFILAXIS IN SOUTH AMERICAN CAMELIDS

Martín Ledesma (Laboratorio de Inmunología Básica, Aplicada y Patológica [LIBAP] e Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral [IDEHU - CONICET - UBA]), **Matías Micucci** (Servicio Vacuna Antirrábica del ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”), **Darío Errico** (Laboratorio de Inmunología Básica, Aplicada y Patológica [LIBAP], Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral [IDEHU - CONICET - UBA]), **Oscar Pérez** (Servicio Vacuna Antirrábica del ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”), **Gabriela Calamante** (Instituto de Biotecnología CICVyA [INTA Castelar]) y **Alejandro Ferrari** (Laboratorio de Inmunología Básica, Aplicada y Patológica [LIBAP] Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral [IDEHU - CONICET - UBA]).

Resumen: Durante las últimas décadas, ha ocurrido un incremento sostenido en la cría, consumo y comercialización de especies no tradicionales –o “exóticas”–, cuyo control sanitario es deficitario o directamente nulo. Este vacío ha conducido a la reaparición de enfermedades que habían sido controladas, y es de resaltar la urgencia del tema. Tal es el caso de la cría de camélidos sudamericanos (llamas, alpacas, vicuñas y guanacos), que se practica desde hace cientos de años por su carne y su cuero –esencialmente en la zona norte de nuestro país– y que ha mostrado un viraje desde la cría y el consumo informal hacia una actividad un poco más formal y controlada. Recientemente (enero/febrero de 2012) se han reportado casos de rabia en camélidos sudamericanos dentro del territorio boliviano, hecho que constituye un peligro significativo para toda la región y un riesgo potencial para las especies susceptibles a este virus en nuestro territorio.

En este contexto, el estudio de estrategias de inmunoprofilaxis antirrábica en camélidos sudamericanos se impone como una tarea prioritaria, con implicancias directas sobre la sanidad en general, y la actividad pecuaria regional del territorio norte de la Argentina en particular. En el marco del proyecto galardonado en el marco de los Premios Senasa a la Investigación, Transferencia Y Comunicación en Sanidad, Calidad e Inocuidad Agroalimentaria 2013, evaluaremos la eficiencia de tres generaciones de vacunas antirrábicas. El proyecto se concretará en dos fases, una primera en pequeña escala – con el fin de optimizar las condiciones de vacunación– y una segunda en mayor escala, para analizar el comportamiento de grupos grandes de animales y valorar el poder protector en función del tiempo. Este proyecto permitirá diseñar y programar acciones de control sanitario frente a eventuales brotes de rabia entre camélidos sudamericanos, coordinadas por las autoridades sanitarias nacionales en el marco del conocimiento aquí generado.

Palabras clave: rabia, vacunación, inmunoprofilaxis, camélidos sudamericanos

Abstract: During the last decades, a sustained increase has occurred in the breeding, consuming and commercialization of non-traditional –“exotic”– species, whose sanitary control is deficient or directly absent. This lack of adequate control has led to the re-appearance of formerly controlled diseases, a fact that highlights the relevance of the matter. Such is the case of the raising of South American camelids (llamas, alpacas, vicuñas and guanacos), which has been practiced for hundreds of years for their meat and fur –essentially in the northern areas of our country– and has turned from an informal fashion to more formal and controlled modes of breeding and consumption. Recently (January/February 2012) several cases of rabies infection in South American camelids have been reported in bolivian territory. This fact that poses a significant danger for the whole region and a potential risk for susceptible species within our territory.

In this context, the study of immunoprophylactic strategies against rabies in South American camelids arises as a priority, with direct implications on human and animal health in general, and regional livestock farming activity in the northern territory of Argentina in particular. During the course of this project, we will evaluate the efficiency of three generations of anti-rabies vaccines. The project will be divided in two phases, the first in small scale –to optimize vaccination conditions– and the second, in a greater scale, to analyze the behaviour of larger animal groups and the protective power of the vaccines along time. In sum, this project will allow the design and scheduling of sanitary control actions that, coordinated by national sanitary authorities, may be applied in response to possible rabies outbreaks in South American camelids.

Keywords: rabies, vaccination, immunoprofilaxis, South American camelids.

Este proyecto será financiado con fondos asignados a los Premios Senasa 2013-2014. El proyecto ha sido elaborado por un grupo de investigación coordinado por el Dr. Alejandro Ferrari y se desarrollará en forma conjunta en el Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU - CONICET - UBA), en la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos Malbrán" y en el Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicasquímicas (CICVYA-INTA Castelar). El origen de este trabajo radica en la necesidad urgente de diseñar y validar estrategias de vacunación antirrábica en los camélidos sudamericanos, ganado de interés emergente en la última década, en tanto reportes recientes señalan que estas especies son susceptibles a la infección por el virus de la rabia. Una epidemia de este virus en los camélidos sudamericanos entraña un riesgo para la salud de los criadores, para el propio ganado y para otras formas de ganado que se críen de modo conjunto, y por eso este trabajo constituye una oportunidad excepcional para triangular las necesidades veterinarias y sanitarias del campo, con los centros de desarrollo de tecnología y con la universidad, bajo el auspicio de la autoridad sanitaria nacional.

Camélidos sudamericanos: poniendo atención sobre la riqueza de nuestra tierra

Desde hace miles de años los seres humanos han estado en contacto con los animales y los han domesticado para su provecho, tanto como medio de transporte y carga como por sus pieles, su carne y su leche. El aspecto sanitario es un asunto central que se hizo relevante apenas los animales entraron en contacto con los hombres; tanto unos como otros son susceptibles de contraer enfermedades –letales o no– que pueden transmitirse horizontalmente entre especies. Sin embargo, los descubrimientos científicos sobre las enfermedades infecciosas son relativamente recientes en la historia del conocimiento y las estrategias de control sanitario han sido históricamente enfocadas sobre las formas de ganadería económicamente dominantes como la cría de bovinos, equinos, porcinos, caprinos y ovinos.



Figura 1: Familia de los camélidos. Los dos paneles superiores muestran a los camélidos del Viejo Mundo (a: camello bactriano; b: dromedario) y a los camélidos del Nuevo Mundo o Sudamericanos (c: llamas; d: guanacos; e: vicuñas; f: alpacas). Fuente: Ferrari (2008).

Durante las últimas décadas ha ocurrido un incremento sostenido en la cría, consumo y comercialización de especies no tradicionales o “exóticas” (Castro, 2006), cuyo control sanitario es deficitario o directamente nulo. Este vacío ha conducido a la reaparición de enfermedades que habían sido controladas (Grupo Especialista en Invasiones Biológicas), y es de resaltar la urgencia que el tema reviste. Entre estas especies se encuentran los camélidos, que pueden dividirse en especies del Viejo Mundo (camellos y dromedarios) y en especies del Nuevo Mundo, o camélidos sudamericanos –grupo que comprende a las llamas, las alpacas, las vicuñas y los guanacos–, que hace ya cientos de años se crían por su carne y su cuero, esencialmente en el norte de nuestro territorio (ver Figura 1).

Si bien existen numerosos reportes que describen algunas de las enfermedades infecciosas a las cuales estas especies son susceptibles (Fassi-Fehri, 1987; Lamo, 2011), y aun considerando la existencia de varios grupos de investigación en nuestro país dedicados al estudio de esta forma de ganado, existen ciertos vacíos de conocimiento que demandan atención inmediata. En este proyecto hemos centrado nuestra atención sobre el reporte de casos de rabia en camélidos sudamericanos dentro del territorio boliviano (*Portal AgroMeat*, 2012; *Diario La Razón*, 2012; *Diario La Patria*, 2012), hecho que constituye un peligro significativo para toda la región en general, y para nuestro territorio en particular, ya que implica un riesgo potencial para las especies susceptibles a este virus (ganado y hombre).

El virus de la rabia tiene forma de “bala” y contiene una única molécula de ARN negativo no-segmentado y envuelto. Se trata de un *Lyssavirus* perteneciente a la familia de los *Rhabdoviridae* que produce una infección aguda del sistema nervioso central, que en los humanos posee cinco estadios: incubación, pródromo, período neurológico agudo, coma y muerte (Centers for Disease Control and Prevention, 2014; Rabies Alliance, 2014; NCBI, 2014). Luego de la inoculación, el virus ingresa al sistema nervioso periférico, migra hasta el cerebro y acaba produciendo la muerte. La susceptibilidad a la infección depende de la especie animal, la variante viral, el inóculo, la localización y severidad de la exposición y el estatus del sistema inmunitario del huésped. Por lo general, el ciclo de replicación en la naturaleza depende de un mantenimiento enzoontico (en animales salvajes y domésticos que se contagian entre sí por mordeduras y aerosoles de fluidos con carga viral) y ocasionalmente el patógeno puede transmitirse a los seres humanos por el mismo medio (Figura 2).

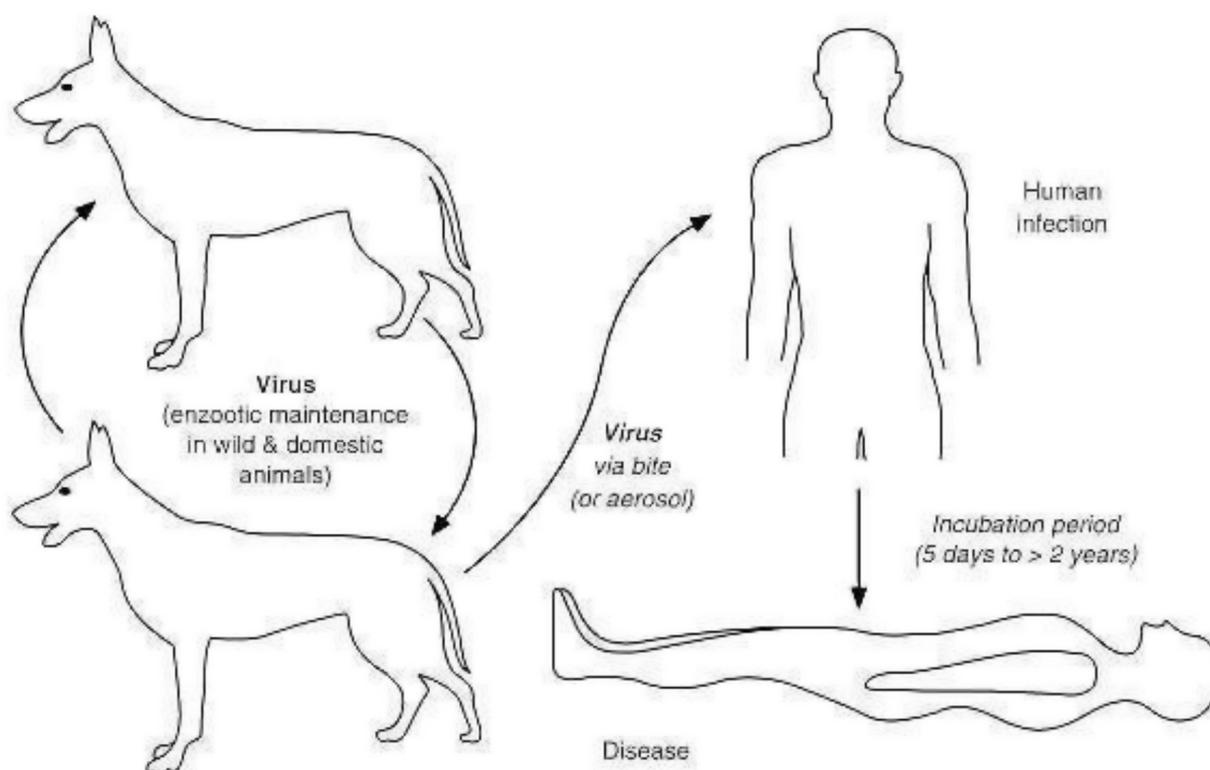


Figura 2: Ciclo de replicación del virus de la rabia. Se observa la transmisión entre animales y hacia el hombre. Fuente: sitio web del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de los EE. UU., www.ncbi.nlm.nih.gov (marzo de 2014).

Existen numerosos reportes de incidencia de rabia en los camélidos (Baba *et al.*, 2005), pero son los más recientes los que resultan especialmente alarmantes, en tanto han tenido lugar en países limítrofes con la Argentina. Por esta razón, creemos que es de especial relevancia el estudio de estrategias de inmunoprofilaxis antirrábica en camélidos sudamericanos, tarea que se impone como prioritaria y que debe articularse entre los sectores científico y productivo, ya que la diseminación de dicha enfermedad tendría implicancias directas sobre la sanidad en general y sobre la actividad pecuaria regional del territorio norte de la Argentina en particular.

Triangulación de necesidades, tecnología y conocimientos

La cría de cualquier especie de ganado debe llevar aparejado un adecuado control sanitario. Dicho control se compone en buena medida por herramientas de diagnóstico de enfermedades infecciosas, acompañadas de estrategias de seguimiento y control. Sin estas cualidades, el control es deficitario, y las buenas prácticas de cría dependen de los conocimientos de los directores de cada establecimiento y del saber basado en otras formas de ganado. En ese contexto, resulta fundamental atender al llamado de atención que constituyen los reportes recientes de aparición de rabia en alpacas provenientes de Bolivia. Así, la hipótesis central de este proyecto –que constituye el marco general en que se encuadran las actividades aquí propuestas– es que la profundización del conocimiento sobre el estatus sanitario y el diseño de herramientas serológicas redundarán en el mejoramiento del diagnóstico y del control sanitario de los camélidos sudamericanos. Para llevar a cabo el plan de trabajo, hemos consolidado un equipo con especialistas en el sistema inmunitario de camélidos sudamericanos, y con dos grupos de reconocida trayectoria en el desarrollo de tecnología vacunal en general y en vacunas antirrábicas en particular. Así, en combinación con los productores –y con el auspicio del Senasa– llevaremos a cabo una tarea prioritaria y fundamental en el campo de la sanidad de los camélidos de nuestro territorio.

El objetivo general de este proyecto será optimizar la estrategia de inmunoprofilaxis antirrábica en camélidos sudamericanos, a los efectos de establecer qué, cómo y cuándo debe inocularse a los animales para conseguir una inmunidad protectora para, en consecuencia, diseñar una estrategia de contención frente a situaciones de emergencia epidemiológica en nuestro país. A pesar de que la suma de evidencias construida por distintos grupos de investigación de Sudamérica ha permitido establecer contundentemente que el estatus sanitario de los camélidos sudamericanos debe ser estudiado con urgencia, todavía existen áreas prioritarias vacantes y una de ellas es la inmunoprofilaxis antirrábica.

En este contexto, se configuran tres objetivos específicos:

a) Evaluación del perfil de respuesta frente a antígenos vacunales derivados del virus de la rabia (vacunas antirrábicas de primera, segunda y tercera generación): caracterización de los isotipos de anticuerpos séricos respondedores frente a cada uno de los antígenos vacunales ensayados e identificación de los antígenos virales inmunodominantes. Para ello, seleccionaremos un lote piloto de animales en colaboración con un establecimiento de cría, y realizaremos la inoculación de 4 UI de cada una de las vacunas por vía intramuscular. Luego, tomaremos muestras de sangre por punción de vena femoral, separaremos el suero y estudiaremos la presencia de anticuerpos específicos por la técnica de ELISA indirecto. Asimismo, utilizando reactivos desarrollados en nuestros laboratorios, discriminaremos los distintos isotipos de inmunoglobulinas con capacidad para reconocer el antígeno y evaluaremos el patrón de moléculas virales reconocidas por los anticuerpos específicos mediante la técnica de Western Blot seguida de detección por quimioluminiscencia.

b) Establecimiento de la capacidad protectora de los anticuerpos específicos desarrollados durante la inmunización, mediante ensayos de seroneutralización en animales de laboratorio (técnica de referencia). A fin de caracterizar con mayor profundidad la respuesta inmune montada frente a los antígenos vacunales, se establecerá la capacidad neutralizante de los sueros enteros así como la de los distintos isotipos y subisotipos de inmunoglobulinas. Esta valoración se realizará por ensayo de la prueba de seroneutralización (SN) en ratones según los procedimientos descritos en el Manual de Rabia de la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2007). La capacidad neutralizante de las muestras se contrastará con sueros de referencia de la Organización Panamericana de la Salud-Organización Mundial de la Salud (OPS-OMS), con el fin de obtener resultados de potencia de seroneutralización comparables y estandarizados.

c) Finalmente se establecerá un correlato entre los anticuerpos específicos y la capacidad protectora antiviral, para así optimizar el esquema de administración del antígeno vacunal de modo de propiciar la mayor protección posible y aumentar la duración de la inmunidad protectora.

Nuestras expectativas son que una primera fase en escala piloto nos permita identificar cuál de las tres vacunas (de primera, segunda o tercera generación) conduce a una respuesta de mayor intensidad en términos de anticuerpos séricos específicos. Las vacunas de primera generación han sido preparadas en cultivos de sistema nervioso de rata; las vacunas de segunda generación están en fase experimental y han sido producidas sobre la línea celular BHK-21; finalmente, las vacunas de tercera generación –también en fase experimental– se han producido construyendo un virus canarypox recombinante que expresa la proteína G viral.

Así, considerando la composición de cada una de las tres generaciones de vacunas, el equipo de trabajo espera que las respuestas de mayor intensidad se consigan con las de tercera generación. A su vez, mediante la realización de los ensayos de seroneutralización en animales de laboratorio, se espera comprobar que dichos anticuerpos específicos son neutralizantes de la capacidad infectiva del virus de la rabia y que el poder protector tenga un correlato con los títulos de anticuerpos séricos, evaluados mediante la técnica de ELISA (mayores títulos, mayor poder protector). Es también un resultado esperado que los mayores títulos de anticuerpos específicos correspondan a sueros con especificidad contra la proteína mayoritaria de la envoltura viral (proteína G), que se evaluará mediante la técnica de Western Blot. De acuerdo con nuestra previsión, creemos que esta información servirá para optimizar la posología del antígeno vacunal, para proceder así a un estudio de campo en un grupo de animales más numeroso. Además, se espera que una vez ajustada la posología de las vacunas, los títulos neutralizantes de anticuerpos específicos protejan a los animales durante al menos un año.

Perspectivas

Este trabajo tiene su origen en un problema emergente en nuestro continente y su finalidad es resolverlo. Los camélidos sudamericanos son una riqueza de nuestro territorio y de nuestra gente, sin embargo hemos postergado durante décadas el cuidado que se merecen. Hoy, la realidad de los países vecinos nos muestra que estas especies están en peligro, así como también lo están las pequeñas economías regionales que de ellas dependen, por noxas tan conocidas y prevenibles como el virus de la rabia. Es por eso por lo que tenemos que “arremangarnos” para resolverlo. Para ello, hemos conformado un equipo de especialistas en camélidos y en el virus de la rabia, y llevaremos a cabo una gran tarea pendiente: desarrollar y optimizar las estrategias de inmunoprofilaxis antirrábica en camélidos sudamericanos. Esta *joint venture* servirá además para mostrar a la sociedad lo que pueden hacer los diferentes actores regulatorios, tecnológicos y académicos cuando trabajan en conjunto al servicio del país.

Bibliografía

Almeida Castro, A. P. (2006), “Producción de especies no tradicionales”, CIC-FCV-UNCPBA. Disponible en: <www.sisman.utm.edu.ec> [Consulta: marzo de 2014].

Baba S. S. (2005), “Serological Evidence Of Rabies Virus Infection Of Slaughter Camels (Camelus Dromedarius) Imported To Nigeria”, *Tropical Veterinarian*, 23, pp. 78-82.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <www.cdc.gov> [Consulta: marzo de 2014].

Diario La Razón (Bolivia), 28 de marzo de 2012. Disponible en: <www.la-razon-com> [Consulta: marzo de 2014].

Diario La Patria (Bolivia), 9 de noviembre de 2012. Disponible en: <www.lapatriaenlinea.com>, <<http://lapatriaenlinea.com/?nota=125220>> [Consulta: marzo de 2014].

Fassi Fehri, M. M. (1987), “Las enfermedades de los camélidos”, *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 6, pp. 355-373.

Ferrari, A. (2008), *Comportamiento inmunobiológico de los anticuerpos de cadena pesada de llama, en la respuesta frente a un modelo de epitopes ocultos*, Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Grupo Especialista en Invasiones Biológicas. Disponible en: <<http://geib.blogspot.com.ar>> [Consulta: marzo de 2014].

Lamo, D. A. (2011), *South American Camelids in Argentina. History, Use, and Animal Health*. Buenos Aires, Senasa.

NCBI - National Center for Biotechnology Information. Disponible en: <www.ncbi.nlm.nih.gov> [Consulta: marzo de 2014].

Portal AgroMeat (Bolivia), 6 de marzo de 2012. Disponible en: <www.agromeat.com> [Consulta: marzo de 2014].

Rabies Alliance. Disponible en: <www.rabiesalliance.org> [Consulta: marzo de 2014].