

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CIRCULANTES CONTRA RABIA EN VAMPIROS COMUNES
(*Desmodus rotundus*),
DE LA REGIÓN PACÍFICO CENTRAL, EN COSTA RICA**

DIEGO ALFONSO ABARCA JIMENEZ

Médico Veterinario

GUATEMALA FEBRERO DE 2012

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CIRCULANTES CONTRA RABIA EN VAMPIROS COMUNES
(*Desmodus rotundus*),
DE LA REGIÓN PACÍFICO CENTRAL, EN COSTA RICA”**

TESIS

**Presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala**

POR

DIEGO ALFONSO ABARCA JIMENEZ

Al conferírsele el Grado Académico de

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA FEBRERO DE 2012

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO: Med. Vet. Leónidas Ávila Palma
SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I: Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II: M.Sc. Med. Vet. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III: Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV: Br. Javier Enrique Baeza Chajón
VOCAL V: Br. Ana Lucía Molina Hernández

ASESORES

M.Sc. Med. Vet. DENNIS SIGFRIED GUERRA CENTENO
Med. Vet. BLANCA JOSEFINA ZELAYA DE ROMILLO
Med. Vet. VICTOR HUGO ZANCHO

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

**En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la
Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su
consideración el Trabajo de Tesis titulado:**

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CIRCULANTES CONTRA RABIA EN VAMPIROS COMUNES
(*Desmodus rotundus*),
DE LA REGIÓN PACÍFICO CENTRAL, EN COSTA RICA”**

**Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Como requisito previo a optar el título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A DIOS: Por las infinitas bendiciones.

A MIS PADRES: Por ser el motor de mi vida, por su esfuerzo incondicional y lucha por hacer realidad este momento, por su apoyo en todas las situaciones presentadas en mi existencia y por su valioso ejemplo; a ellos aquí el fruto de su esfuerzo.

A MIS HERMANOS: por su comprensión, por estar presentes en todos los buenos y malos momentos siempre con la mejor actitud de aliento.

A MI FAMILIA EN COSTA RICA: en especial a Angélica, Ignacio, Mariana, por ser una motivación especial para poder cumplir esta meta.

A MI FAMILIA EN GUATEMALA: por abrirme las puertas de su amistad, cariño y afecto que me hicieron sentir en casa.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: por hacer posible alcanzar este logro.

A MIS PADRES: por darme la oportunidad, por confiar en mí, por haberme permitido llegar a ver cumplida esta meta, todo gracias a su gran entrega y sacrificio.

A MIS HERMANOS: por todos sus esfuerzos, limitaciones y sacrificios directos e indirectos que permitieron a mis padres poderme apoyar de la manera incondicional. Por tantas buenas actitudes que me alentaron a lo largo de todo el camino.

A MARIANA CORONADO: por servirme de ejemplo y motivación al terminar este logro.

A MI FAMILIA EN GUATEMALA: a Doña Ilse por siempre preocuparse por mí, por sus consejos y por su ayuda en los momentos que más lo necesité. A Nono, La Nena y Raúl, por sus muestras de cariño que lograron hacerme sentir realmente en familia.

A MIS COMPAÑEROS: por todos los momentos compartidos, por todas las anécdotas que vivirán por siempre en mis recuerdos.

AL PERSONAL DOCENTE Y ADMINISTRATIVO: por todas las enseñanzas, y por contribuir de la mejor manera en mi formación.

A TODAS las personas que de una u otra manera aportaron a mi formación y a la siembra, para hoy estar cosechando los frutos.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
3.1	General	4
3.2	Específicos	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1	Rabia	5
4.1.1	Transmisión	5
4.1.2	Diagnóstico	6
4.2	El vampiro común (<i>Desmodus rotundus</i>)	6
4.2.1	Hábitat	7
4.2.2	Distribución	8
4.2.3	El vampiro como hospedero	9
4.2.4	Conducta de alimentación	9
4.2.5	Daños al animal	10
4.3	Pérdidas económicas asociadas al vampiro común	10
4.4	El factor lunar	11
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	12
5.1	Área de estudio	12
5.2	Materiales	12
5.2.1	De campo	12
5.2.2	De laboratorio	13
5.2.3	Recursos Humanos	13
5.2.4	Recursos Biológicos	13
5.3	Tamaño de la muestra	14
5.4	Distribución de la muestra	14
5.5	Captura de los vampiros	15
5.6	Toma de la muestra	15
5.7	Manejo y transporte de la muestra	15
5.8	Procesamiento de la muestra	16

5.9	Análisis estadístico	16
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
VII.	CONCLUSIONES	19
VIII.	RECOMENDACIONES	20
IX.	RESUMEN	21
X.	BIBLIOGRAFÍA	22
XI.	ANEXOS	24
XII.	APÉNDICE	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Vampiro Común	7
Figura 2:	Distribución geográfica del vampiro común	8

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1:	Distribución de la muestra	14
-----------	----------------------------	----

I. INTRODUCCIÓN

El vampiro común (*Desmodus rotundus*) juega un papel muy importante en la transmisión de la rabia al ganado vacuno, y a otras especies de sangre caliente de América Latina. Debido a sus hábitos alimenticios, cualquier vampiro común que sea portador del virus, puede transmitir la rabia a otros animales, cuando se alimenta de la sangre de estos. (8)

La rabia transmitida por el perro está siendo controlada en la mayoría de los países de América; y esto sumado a la conciencia de las personas de vacunar a sus perros ha hecho que la rabia transmitida por perros disminuya. Sin embargo desde hace algunos años se ha observado un aumento en los casos de rabia causada por mordedura de animales silvestres, siendo el vampiro común el principal transmisor al ganado vacuno, al equino y también al humano. (10) (8) (4)

En Costa Rica lo anterior se demuestra con las 271 muertes de bovino ocurridas desde el año 2000 hasta marzo del 2007, sumado a esto la muerte de dos humanos en el 2001 por rabia asociada a vampiros comunes, todos los casos confirmados mediante laboratorio. Con una incidencia de mordeduras del 8 %, las pérdidas económicas, en producción de carne, directamente relacionadas al vampiro común se estiman en \$ 384 615.38 anuales. Las pérdidas económicas en la producción de leche atribuibles al vampiro común se aproximan a \$ 206 718.75 por año. (11)

A pesar que se señala al vampiro común como reservorio transmisor de la rabia parálítica, no existe suficiente información sobre la situación actual del estado de la prevalencia del virus rábico en los vampiros, lo que hace un problema latente que pone en riesgo a los hatos bovino y equino así como a la población humana.

Conviene investigar a fondo la epidemiología de la rabia del vampiro común para determinar con exactitud los riesgos que presenta para la salud de humanos, carnívoros domésticos y salvajes, además encontrar el modo de prevenir la enfermedad en las poblaciones que tienen contacto con los vampiros comunes. (4).

En el presente estudio determinaré la presencia de anticuerpos contra el virus de la rabia en vampiros de la región pacífico central, en Costa Rica.

II. HIPÓTESIS

No existe presencia de anticuerpos circulantes contra rabia en los vampiros comunes muestreados.

III. OBJETIVOS

3.1 General:

- Generar información epizootiológica sobre la presencia de anticuerpos contra rabia en el vampiro común en Costa Rica

3.2 Específicos:

1. Determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra rabia en los vampiros comunes muestreados.
2. Determinar si la presencia de anticuerpos circulantes contra rabia en el vampiro común depende del sitio muestreado.
3. Determinar si la presencia de anticuerpos circulantes contra rabia en el vampiro común depende del sexo.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Rabia

La rabia es una enfermedad viral aguda y contagiosa que afecta el sistema nervioso central y es casi siempre de desenlace mortal. Se caracteriza por excitación, luego depresión, parálisis, coma y muerte. Ocurre en todas las especies de mamíferos incluyendo al humano. En los bovinos, en el trópico y subtropical, el cuadro clínico se manifiesta con mayor frecuencia sin la fase de excitación, al aparecer directamente la fase de parálisis, y por esta razón se le denomina rabia parálitica bovina. El agente causal es un virus con contenido de ácido ribonucleico (ARN), pertenece a la familia Rhabdoviridae y al género Lyssavirus. (13)

4.1.1 Transmisión

El mecanismo de transmisión universalmente aceptado y el más frecuente, es la inoculación del virus rábico a través de la mordedura. Tiene que haber contacto directo entre el virus intacto y el huésped susceptible. El virus debe alcanzar las terminaciones nerviosas y penetrar el axón. La transmisión por inhalación debe ser considerada como inusual y en la práctica puede ocurrir en laboratorio o en cuevas habitadas por murciélagos o vampiros con rabia. La transmisión por simple contacto con cadáveres de animales rabiosos es así mismo excepcional y puede ocurrir sólo durante el manejo de cadáveres contaminados con saliva infectante o durante la práctica de necropsia de las manos desnudas y en presencia de abrasiones. (15)

La contaminación por contacto indirecto con objetos contaminados es aún menos probable y rara en la práctica, solo las heridas profundas causadas por instrumentos contaminados por el virus. La transmisión por ingesta de cadáveres de animales rabiosos es igualmente rara. (15)

4.1.2 Diagnóstico

La presencia de virus rábico en tejidos no nerviosos, puede servir de gran utilidad como medio de diagnóstico, ya que la no disponibilidad de tejido cerebral puede compensarse con tejidos no nerviosos. Trabajos anteriores han demostrado la presencia de virus rábico en órganos diferentes al Sistema Nervioso y también se ha logrado el aislamiento de virus rábico de riñón y cerebro de bovino infectado naturalmente. Aunque el virus afecta específicamente el sistema nervioso, se cree que se difunde en el organismo animal a través de la vía sanguínea, lo que permitiría su presencia en diferentes tejidos. Es bien conocida la persistencia del virus rábico en la grasa interescapular de los murciélagos. (2)

El kit PLATELIA™ RABIES II es una prueba ELISA diagnóstica in vitro que permite la detección y valoración de la IgG contra la glicoproteína del virus de la rabia en suero y plasma. (3) La prueba esta validada por la Organización Mundial de Sanidad Animal OIE, aprobada en la 75a Sesión General Anual. (17)

4.2 El Vampiro Común (*Desmodus rotundus*)

Los vampiros comunes pertenecen a la familia Phyllostomidae, son murciélagos de tamaño mediano (longitud del cuerpo 60-90 mm) y peso de 25-40 g, son de color marrón, con pelaje denso y corto, cara aplanada con hocico corto y sin hoja nasal, lo que los asemeja a pequeños cerdos. Presentan orejas pequeñas, algo puntiagudas y separadas, el pulgar es largo con tres cojinetes y una garra, carecen de cola. El labio inferior presenta una escotadura en forma de V, con incisivos superiores anchos y filosos, mientras que los inferiores son pequeños. Los caninos son largos de punta aguda y borde posterior afilado. (14)

Fig 1 Vampiro común

Fuente: (14)

4.2.1 Hábitat

El vampiro común habita en lugares silvestres de regiones cálidas y semi-cálidas. Se le encuentra en una diversidad de refugios, tales como huecos de árboles, grutas, túneles, minas, casas abandonadas, etc. pero tiene preferencias por las cavernas húmedas especialmente aquellas que contienen una fuente de agua. En estos lugares se mantienen colgados perpendicularmente en las partes elevadas de las paredes profundas, separados en grupos y está siempre saturado de un fuerte olor amoniacal debido a sus heces sanguinolentas acumuladas en el piso. (4). Forman colonias de 20 a 100 individuos, pudiendo compartir estos sitios con otras especies de murciélagos. Pueden desplazarse distancias considerables, de 5 a 8 kilómetros, en ocasiones hasta 20 kilómetros, en busca de alimento, aunque tienden a minimizar las distancias perchando en sitios contiguos a la fuente de alimento. (14)

Los vampiros comunes se encuentran desde el nivel del mar hasta elevaciones de más de 3, 500 metros, aunque prefieren alturas por debajo de los 1,500 m.s.n.m. Se concentran en grandes números donde pueden encontrar suficientes fuentes de alimento. (10)

4.2.2 Distribución

El *Desmodus rotundus* es el vampiro más extensamente distribuido y se encuentra desde el norte de México y Centro América, extendiéndose por ambos lados del continente Americano hasta la región central de Chile, Argentina y Uruguay, así como en las Islas de Margarita y Trinidad en el Caribe. (10)

Fig 2 Distribución geográfica del vampiro común



4.2.3 El vampiro como hospedero

Los estudios sobre la infección experimental de la rabia en uno de sus huéspedes, el murciélago, ha proporcionado datos originales relativos a la susceptibilidad de varias especies a diferentes cepas del virus rábico. La habilidad de estos animales para transmitirlo, sugiere de cierta especialización única de los murciélagos, relacionada con su efectividad como reservorio de la rabia. (15)

Al considerarse ciertas características fisiológicas de los murciélagos que pudieran tener efecto positivo en su papel de portadores del virus rábico, se puso especial atención al tejido adiposo, en particular la grasa marrón, en la cual se pudo encontrar y reproducir el virus, el cual se puede aislar de varios tejidos de animales infectados pero con apariencia normal. Los animales infectados desarrollaron signos de rabia, en otros casos pueden morir sin haber presentado síntomas nerviosos ni manifestar ningún signo de enfermedad. Se ha observado, así mismo, recuperaciones de murciélagos experimentalmente infectados como también se ha observado la presencia de anticuerpos específicos en murciélagos que nunca parecieron enfermos durante el período de observación. La demostración del virus rábico en fetos y en la glándula mamaria de murciélagos inoculados experimentalmente, sugiere que puede haber infección transplacentaria o que la infección de la progenie a través de la leche de la madre ocurre naturalmente, favoreciendo la presentación de la infección rábica en las poblaciones de murciélago, aun en ausencia de mordedura o de transmisión aerógena. (15)

4.2.4 Conducta de alimentación

Los vampiros no son capaces de vivir mucho tiempo sin alimentarse y pueden morir después de 48 horas de haber sido capturados. Son animales que su reproducción no tiene período fijo y tienen una sola cría por parto. El vampiro común tiene mayor preferencia por la sangre de animales domésticos que la

sangre de animales silvestres; en cuanto oscurece este murciélago sale de su refugio recorriendo distancias dentro de un radio de 14 a 20 km. en busca de alimento. Una vez localizada su víctima, vuela suavemente y se posa sobre su presa o aterriza muy cerca de ella; subiendo al sitio escogido. Efectúa la mordedura en lugares ricos en vasos sanguíneos; con sus afilados incisivos hace un pequeño y fino corte circular (forma de media luna) de 3 a 4 mm. La víctima al encontrarse por lo general en reposo no llega a percibir la leve mordedura. De la herida fluye abundante sangre, de manera que el animal puede lamer con facilidad una buena cantidad de sangre en vez de chupar como erróneamente creen muchas personas. (6)

4.2.5 Daños al animal

La herida producida por los vampiros tiene serias consecuencias, varios de estos quirópteros pueden alimentarse de un mismo animal. Tienen la costumbre de visitar nuevamente a su víctima y reabrir la herida hecha con anterioridad. La herida produce una fuerte hemorragia que ocasiona una anemia aguda. Las heridas quedan vulnerables a las infecciones bacterianas y a la acción de moscas productoras de miasis (gusaneras). Esto puede ocurrir como daños severos, ya que también en el acto de la alimentación pueden transmitir enfermedades peligrosas y mortales como la rabia. (6)

4.3 Pérdidas económicas asociadas al vampiro común

La incidencia de la rabia transmitida por estos mamíferos se ha incrementado conforme ha aumentado el desarrollo de la ganadería en el país. Aunque se han realizado numerosos esfuerzos para controlar esta enfermedad en los animales domésticos, muchas de las medidas tomadas para el control han sido inadecuadas, lo que ha llevado a pérdidas económicas y al exterminio de

otras especies de quirópteros, benéficas para los ecosistemas, sin necesariamente controlar el ciclo silvestre de la enfermedad.

Se estima que en áreas marginales de América Latina, la mortalidad anual es de 50 mil cabezas de ganado, cifra que se incrementa al considerar las pérdidas indirectas por mordeduras de vampiros (carne, leche y devaluación de pieles), causando un total aproximado de 50 millones de dólares anuales. (14)

4.4 El factor lunar

Los vampiros comunes son de hábitos nocturnos; sin embargo, está plenamente demostrado que solamente salen de sus refugios para alimentarse del ganado en las horas de la noche en que no se observa la luna en el horizonte. Cuando la luna esta visible, ya sea llena en creciente o en menguante, los vampiros permanecen en el interior de sus refugios.

El conocimiento de esta condición de los vampiros y del calendario lunar, nos permite programar las capturas de forma más eficaz. Los mejores días son los posteriores a una semana después de la luna llena, pues durante esos días habrá oscuridad total después del crepúsculo y la luna aparecerá a partir de las 21 horas, ampliando su período de aparición cada día subsiguiente.

De este modo, se pueden colocar las redes al atardecer, capturar a los vampiros durante el corto período de oscuridad, tomar las muestras y liberarlos antes de que aparezca la luna, terminando el trabajo entre las 22 y las 23 horas. (5)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

La región pacífico central esta situada en la parte central de la Vertiente del Pacífico de Costa Rica, se extiende desde Playa Herradura o Jacó, hasta Dominical, Cerros de Herradura, Cerro Turrubares, Cerro Cangreja, partes bajas (pie de monte) de la Fila Costeña; comprende el poblado de Tinamaste, todo el Valle de Parrita, Quepos y Manuel Antonio. (16)



5.2 Materiales

5.2.1 De campo

- Tubos plegables para colocación de redes
- 4 Redes de niebla
- Cuerda
- Cuchillo
- Guantes de cuero
- Linternas
- Jaulas para vampiros
- Jeringas de 3 ml.
- agujas de 1 pulgada calibre 23
- Tubos de ensayo
- Viales
- Hielera
- Cinta de identificar
- Gradilla para tubos de ensayo
- Gradilla para viales

- Guantes de látex
- Ropa de trabajo en campo (overol)

5.2.2 De laboratorio

- Congelador
- Micropipetas unicanal
- Micropipetas multicanal
- Tips (puntas)
- Lector de Elisa (450 nm - 620 nm)
- Vortex
- Computadora
- Papel mayordomo
- Agua destilada
- Kit Elisa Platelia Rabies II, uso veterinario
- Lápiz
- Tabla de campo
- Hojas de notas
- Bata o gabacha

5.2.3 Recursos humanos

Estudiante de veterinaria

Dos funcionarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería

Dos ayudantes por finca a muestrear

5.2.4 Recursos Biológicos

Se tomó un total de 96 muestras de vampiros (1 ml. de sangre a cada uno) de las 10 fincas muestreadas.

5.3 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra obedeció tanto a la disponibilidad de recursos financieros, como de recursos biológicos, siendo un total de 96 muestras.

5.4 Distribución de la muestra

Se realizaron 10 eventos en diferentes fincas del área, en donde se atendieron denuncias ante el Ministerio de Agricultura y Ganadería, por presentar problemas de mordeduras de vampiros en el ganado bovino.

De las capturas realizadas se tomó en cuenta el total de vampiros capturados, distribuidos de la siguiente manera:

Cuadro No. 1

Distribución de la muestra

No. Finca	Propietario	Ubicación	Cant.
1	Antonio Sibaja Porras	Parrita	9
2	José Alfaro Barth	Mata de Platano de Turrubares	13
3	Alonso Valverde	San Isidro de Turrubares	9
4	Julio Cubillo Jiménez	Floralia de Puriscal	18
5	Hermanos Alfaro Campos	Gamalotillo de Puriscal	10
6	Miguel Mora Guzmán	Alto de Limón de Puriscal	7
7	Paulino Jiménez	Gamalotillo de Puriscal	1
8	Ulises Pérez Pérez	Bajo Pérez de Puriscal	12
9	Antonio Abarca Retana	Bajo Moras de Puriscal	12
10	Gilberto Jiménez	San Antonio de Tulín	5
Total			96

5.5 Captura de los vampiros

Se programaron las capturas de acuerdo a la fase lunar, del cuarto al octavo día luego de la luna llena, esto debido a que el vampiro común se alimenta en la fase oscura de la noche.

Antes de realizar cada captura el ganado permaneció encerrado durante dos noches previas al día programado para la captura, esto con el objetivo de que el vampiro pudiera encontrar la fuente de alimento con mayor facilidad el día de la captura.

Se utilizaron redes de niebla de nylon negro, las cuales tienen una longitud de 6 a 12 metros, de acuerdo a las necesidades, y 2 metros aproximados de altura. Se colocaron dichas redes por fuera del corral a una distancia de 1.5 a 2 metros, cubriendo todo el perímetro del mismo.

5.6 Toma de la muestra

Una vez removido cada vampiro de las redes se colectó 1 ml. de sangre de cada animal, directamente del corazón, con jeringa estéril y aguja calibre 23 de una pulgada. Las muestras fueron colocadas en su respectivo vial estéril, debidamente identificado.

5.7 Manejo y transporte de la muestra

Tomada la muestra, se dejó en reposo aproximadamente una hora y media, con el objetivo de que se separase el suero del plasma sanguíneo. Una vez separado el suero, éste fue pasado a otro vial debidamente identificado, y se mantuvo en refrigeración, hasta guardarlo en congelador - 20 °C. para su posterior envío al laboratorio. Las muestras fueron transportadas al laboratorio en hielera, para mantener su temperatura de refrigeración, fueron trasladadas

siempre con doble bolsa plástica para evitar que entraran en contacto con la hielera y el congelador.

5.8 Procesamiento de las muestras

Todas las muestras se procesaron en el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios del SENASA del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, utilizando el protocolo cualitativo del kit de ELISA Platelia Rabies II uso veterinario descrito por laboratorio Bio-rad. (5) (ver apéndice 1)

5.9 Análisis estadístico

Para determinar si la presencia de anticuerpos en el vampiro depende del sitio muestreado se utilizó la prueba de G (12)

Para determinar si la presencia de anticuerpos depende del sexo del vampiro se utilizó la prueba de G (12)

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron anticuerpos circulantes contra rabia en las muestras analizadas. El hecho de no haberse determinado la presencia de anticuerpos contra rabia en los vampiros analizados puede atribuirse a una amplia variabilidad en la respuesta humoral que desarrollan estos individuos ante un desafío. (Almeida *et al*, 2005)

Una de las razones principales por las cuales todas las muestras analizadas estuvieron negativas, puede ser que los individuos analizados nunca estuvieron en contacto con el virus y por ende no desarrollaron una respuesta humoral en la formación de anticuerpos. Por otra parte, según Almeida *et al.*(2005), los vampiros pueden tener algunas variantes en la respuesta humoral. Estos ante un desafío pueden ser asintomáticos, no generar anticuerpos, desarrollar la enfermedad y morir, o desarrollar la enfermedad y generar anticuerpos con niveles óptimos para una adecuada protección y superar la infección. Ante esta amplia variabilidad, existe la posibilidad que algunos de los individuos muestreados hayan estado en contacto con el virus pero estos no desarrollaron la enfermedad ni generaron anticuerpos. (Almeida *et al*, 2005)

Se debe considerar también que ante una infección algunos de los individuos mueren, por esta razón, algunos de los vampiros que estuvieron en contacto con el virus pudieron fallecer y por ende, no formaron parte de la muestra.

Los títulos de anticuerpos pueden bajar a niveles no detectables, luego de un periodo largo de ausencia de estímulos que los eleve nuevamente. Tomando en cuenta la longevidad de los vampiros que puede llegar a ser de hasta 15 años, se podría considerar la posibilidad, que algunos individuos que estuvieron expuestos a un desafío, ya no tenga niveles de anticuerpos detectables. Según Lomonte (2003), los niveles de IgG presentan una vida

media en la circulación de 23-30 días, esto si no existe una reinfección o estímulo para lograr una respuesta de refuerzo inmunológico. Se podría considerar entonces que, si alguno de los individuos muestreados estuvo en contacto con el virus con mucha anterioridad, generando anticuerpos, es posible que luego de un período prolongado estos ya no sean detectables.

Dentro de las indicaciones de bio-rad para el uso de Platelia Rabies II uso veterinario, está la detección de niveles de IgG a nivel sérico. Según Lomonte (2009) la primera respuesta de defensa del sistema inmune está dada por las IgM que posteriormente son remplazadas por las IgG. Por esta razón se debe considerar también que si un individuo muestreado había estado en contacto muy reciente con el virus, los niveles de anticuerpos presentes serían IgM y la prueba daría un resultado negativo.

La sensibilidad de la prueba utilizada en el presente estudio es de 88.8 %, según Bio-Rad (2009), existe también la posibilidad que un vampiro positivo a la presencia de anticuerpos, se haya diagnosticado como negativo, lo cual corresponde a un falso negativo.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo no coinciden con los resultados obtenidos por Rico *et al.* (2010) en donde de 94 muestras de sangre analizadas también con el método de ELISA, el 78% de los individuos presentaron anticuerpos contra rabia. Esta diferencia en los resultados se puede atribuir a uno o varios factores de las variantes en la respuesta humoral de los vampiros, descritas anteriormente, y que justifican el porqué las muestras analizadas en el presente trabajo estuvieron negativas.

Al tener todas las muestras negativas no se puede determinar si la presencia de anticuerpos circulantes contra rabia depende tanto del sexo como del sitio muestreado.

VII. CONCLUSIÓN

- 1) Los anticuerpos circulantes contra rabia en los individuos muestreados no fueron detectados.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1) Se recomienda realizar las capturas y muestreos en los mismos lugares donde se presentan brotes de rabia, no muchos días posteriores al mismo, siguiendo el mismo protocolo de trabajo descrito en el presente documento. Esto porque es cuando existe una mayor posibilidad de poder determinar la presencia de anticuerpos.

- 2) Se recomienda que en futuros trabajos de investigación se tome cuenta a otros individuos de otras especies de murciélagos, no solamente hematófagos, ya que todos tienen la posibilidad de ser portadores de rabia.

IX. RESUMEN

Con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos contra rabia en vampiros comunes del área pacífico central de Costa Rica se muestrearon 96 individuos. Se capturaron vampiros en 10 fincas ganaderas que han presentado una problemática de alta incidencia de mordeduras de vampiros. Se realizaron las capturas utilizando redes de niebla. Se investigó la presencia y niveles de anticuerpos mediante ELISA con el Kit de Platelia Rabies II, uso veterinario. No se determinó presencia de anticuerpos en los vampiros. Se atribuye esta ausencia principalmente, a que los vampiros muestreados no estuvieron en contacto o desafío con el virus rábico.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Almeida, M. Martorelli, L. Aires, C. Sallum, E. Massad, E. 2005. Experimental rabies infection in haemotophagous bats *Desmodus rotundus*. p. 523-527
2. Alvarado, J; Diamante, A; Delgado Ch, H; Cubillón, E. 1976. Diagnóstico de virus rábico en tejido no nervioso (en línea). Consultado 10 sep. Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasCientificasVeterinariaTropical/vt1/texto/jalvarado.htm>
3. Bio-Rad. 2004. Kit para la detección y valoración in Vitro de la IgG contra la glicoproteína del virus de la rabia en suero de gatos, perros y zorros. p. 35-49
4. Cliquet, F; Picard-Meyer, E. 2004. El virus de la rabia y virus afines: consideraciones modernas sobre una enfermedad antigua (en línea). Consultado 15 sep. Disponible en http://www.oie.int/esp/publicat/RT/2302/E_R230215.htm
5. Flores Crespo, R. 2003. Técnicas, substancias y estrategias para el control de murciélagos vampiros. México, D.F. OPS. p 5.
6. Jiménez, J; De la Torre, D. 2006. Prevención de la rabia parálitica bovina y control de la población de vampiros (*Desmodus rotundus*). México, D.F. Bayer, p 21-37
7. Lomonte, B. 2009. Nociones de Inmunología. 4 ed. Costa Rica. p. 37-38
8. Nakagawa, A. s.f. Rabia y Transmisión por Vampiros (en línea). Consultado 15 sep. Disponible en <http://www.cetabol.cotasnet.com.bo/rzsp/9/sp/naka.pdf>
9. Rico, O. Loza-Rubio, E. Rojas, E. Medellín, R. Suzán, G. 2010. Prevalence of rabies antibodies and diversity of neotropical bat communities in fragmented landscapes in Puebla, Mexico. p. 232
10. Ruiz, A. sf. Epidemiología de la rabia transmitida por murciélagos vampiros. snt. 11 p.
11. Sancho, V. s.f. Informe del programa de Rabia Parálitica Bovina. Costa Rica, Programa nacional de rabia parálitica bovina, MAG. 17 p. totales
12. Sokal, R; Rohlf, J. 1995. Biometry. 3d. ed. New fork, US, Freeman and Company. 887 p.



13. Vargas, A; Sancho, V. 1990. Rabia paralítica bovina en el valle en el valle de la estrella descripción y análisis de un brote. Ciencias veterinarias. 12 (1): 29-35
14. Vargas, R. sf. Los murciélagos y la rabia. (en línea). Consultado 15 sep. Disponible en <http://hypatia.morelos.gob.mx/no6/colaboraciones/murcielagos.htm>
15. Vargas, R; Cardenas, J. 1996. Epidemiología de la rabia: situación actual en México (en línea). Consultado 10 sep. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol7/CVv7c12.pdf>
16. Solano, J; Villalobos, R. sf. Regiones y Subregiones Climáticas de Costa Rica (en línea) Consultado 22 jul 2010. Disponible en http://hermes.imn.ac.cr/publicaciones/estudios/Reg_climaCR.pdf
17. OIE (Organización Mundial de Salud Animal). 75a Sesión General Anual. 20 – 25 de mayo de 2007 (en línea) Consultado 22 jul 2010. Disponible en http://www.oie.int/esp/press/es_070525_sg.htm



XI. ANEXOS

Anexo 1.

Hoja utilizada para la recolección de datos por cada captura de vampiros

Fecha: _____

Lugar: _____

Propietario: _____

Georeferencia: latitud. _____ Longitud _____

Cantidad de muestras	hembras	machos

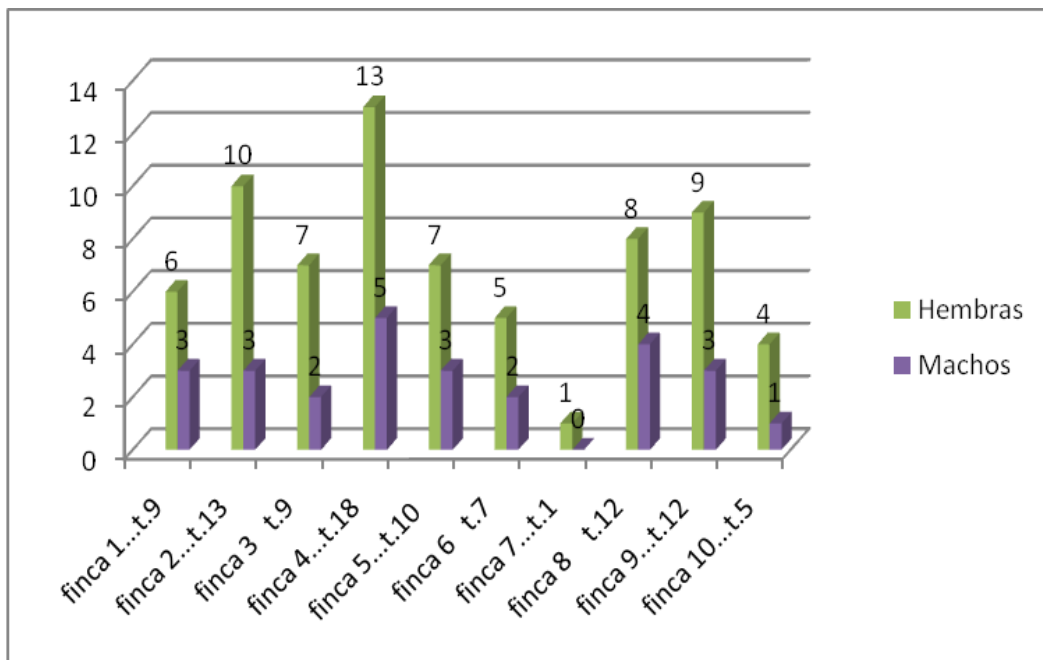
Anexo 2.

No. Finca	Propietario	Lugar	Total	Hembras	machos	positivos
1	Antonio Sibaja Porras	Parrita	9	6	3	0
2	José Alfaro Barth	Mata de Platano de Turrubares	13	10	3	0
3	Alonso Valverde	San Isidro de Turrubares	9	7	2	0
4	Julio Cubillo Jiménez	Floralia de Puriscal	18	13	5	0
5	Hermanos Alfaro Campos	Gamalotillo de Puriscal	10	7	3	0
6	Miguel Mora Guzmán	Alto de Limón de Puriscal	7	5	2	0
7	Paulino Jiménez	Gamalotillo de Puriscal	1	1	0	0
8	Ulises Pérez Perez	Bajo Pérez de Puriscal	12	8	4	0
9	Antonio Abarca Retana	Bajo Moras de Puriscal	12	9	3	0
10	Gilberto Jimenez	San Antonio de Tulín	5	4	1	0

Fincas muestreadas y Resultados obtenidos

Anexo 3

Distribución de la muestra por Sexo



Anexo 4

Ubicación Geográfica de Fincas Muestreadas

	Ubicación finca muestreada	latitud	Longitud
1	Parrita	09°31'23.63 N	84°24'22.09 O
2	Mata de Plátano	09°70'31.0 N	84°49'11.4 O
3	San Isidro Turrubares	09°60'69.02 N	84°49'92.8 O
4	Floralia	09°81'29.9 N	84°27'45.4 O
5	Gamalotillo	09°61'77.2 N	84°43'27.1 O
6	Alto Limón	09°74'16.0 N	84°34'93.7 O
7	Gamalotillo	09°59'74.0 N	84°45'38.8 O
8	Bajo Pérez	09°41'52.00 N	84°18'59.23 O
9	Bajo Moras	09°47'21.63 N	84°17'52.87 O
10	San Antonio Tulín	09°59'59.0 N	84°48'35.4 O

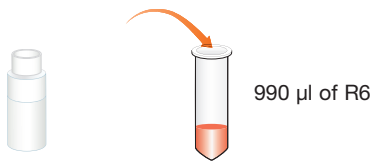


XII. APENDICE



Controls Preparation

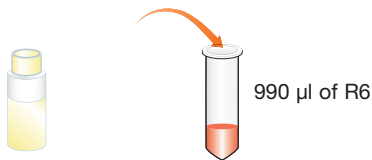
10 µl of R3



1. R3 (negative control): 1/100 dilution in R6

- Add 10 µl of R3 to 990 µl of R6
- Vortex to homogenize control

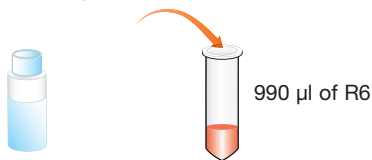
10 µl of R4a



2. R4a (0.5 EU/ml positive control): 1/100 dilution in R6

- Add 10 µl of R4a to 990 µl of R6
- Vortex to homogenize control

10 µl of R4b

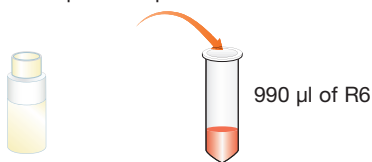


3. R4b (4 EU/ml positive control): 1/100 dilution in R6

- Add 10 µl of R4b to 990 µl of R6
- Vortex to homogenize control

Samples Preparation

10 µl of sample



4. Sample preparation: 1/100 dilution in R6

- Add 10 µl of sample to 990 µl of R6
- Vortex to homogenize solution

NOTE: As samples and controls have to be diluted, volume pipetting is a critical part of the assay. If necessary, it is possible to prepare larger volumes of controls or samples (e.g. 20 µl of R3 in 1,980 µl of R6).

Reagents Preparation*

R2 Wash solution

- 1/10 dilution in distilled water:
Add 50 ml of R2 to 450 ml of distilled water
(volume for one microplate ≈ 500 ml)

R7 Conjugate

- 1/10 dilution in freshly diluted R2:
Add 1.1 ml of concentrated conjugate to 9.9 ml of diluted R2
(volume for one microplate ≈ 11 ml)

R8+R9 Enzymatic development solution

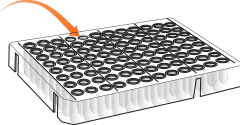
- 1/11 dilution in R8:
Add 1 ml of R9 to 10 ml of R8
(volume for one microplate ≈ 11 ml)

* See Assay Protocol for reagent preparation timing

Please read the instruction manual for complete and detailed instructions.

Assay Protocol

100 µl



Incubation

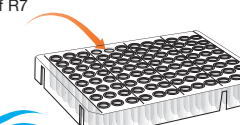
60 min
± 5 min

37°C
± 2°C

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R3	E3
B	R3	E4
C	R4a	E5
D	R4a	E6
E	R4b	E7
F	R4b	E8
G	E1	E9
H	E2	E10

- Add 100 µl of R3 (x2), R4a (x2), R4b (x2) diluted controls and samples (x1) to the microplate, as shown in the plate layout
- Cover the microplate with adhesive film while incubating at 37°C for 60 minutes

100 µl of R7



Incubation

60 min
± 5 min

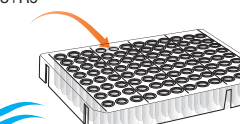
37°C
± 2°C

Wash x 3

Prepare the wash solution (R2) and the conjugate solution (R7)

- Remove the adhesive film
- Perform 3 wash cycles with the diluted wash solution (R2)
- Add 100 µl of the diluted conjugate solution (R7) to each well
- Cover the microplate with adhesive film while incubating at 37°C for 60 minutes

100 µl R8+R9



Incubation

30 min
± 5 min

RT
(18-30°C)

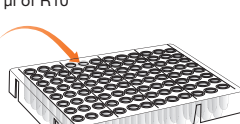

Wash x 5

Prepare the enzymatic development solution (R8+R9)

- Remove the adhesive film
- Perform 5 wash cycles with the diluted wash solution (R2)
- Add 100 µl of the diluted enzymatic development solution (R8+R9)
- Incubate in the dark for 30 minutes at room temperature

Note: Do not use adhesive film during this incubation

100 µl of R10

Bichromatism reading
450 nm - 620 nm

- Add 100 µl of stop solution (R10) to each well similarly to R8+R9 solution
- Read the plate at 450 nm – 620 nm* (dual wavelength mode)

* Reference wavelength

Results Interpretation

Interpretation is done either with the Bio-Rad validated readers or by using the Platelia™ Rabies II spread sheet. Please see the package insert for further details.

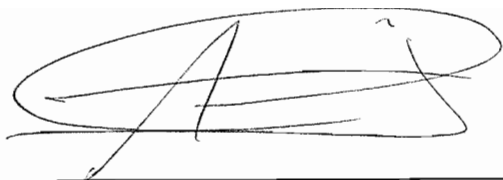
OD Results	Interpretation
Sample OD > R4b OD	Seroconverted +++
R4a OD ≤ Sample OD ≤ R4b OD	Seroconverted
Sample OD < R4a OD	Not seroconverted

BIO-RAD

Bio-Rad
Laboratories, Inc.

Life Science
Group

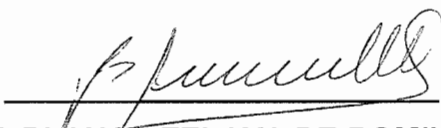
Web site www.bio-rad.com USA 800 4 BIORAD Australia 61 02 9914 2800 Austria 43 (0) 1 877 89 01 Belgium 09 385 55 11 Brazil 55 21 3237 9400 Canada 905 712 2771 China 86 21 6305 2255 Czech Republic 420 241 430 532 Denmark 44 52 10 00 Finland 09 804 22 00 France 33 1 47 95 62 59 Germany 49 (0) 89 318 84 0 Greece 30 210 777 4396 Hong Kong 852 2789 3300 Hungary 36 1 455 8800 India 91 124 2398 112/113/114 Israel 03 951 4127 Italy 39 02 216 091 Japan 03 5811 6270 Korea 82 2 3473 4460 Latin America 305 894 5960 Mexico 52 555 200 0520 The Netherlands 31 318 540 666 New Zealand 64 9 415 2280 Norway 23 38 41 30 Poland 48 22 331 99 99 Portugal 351 21 472 7700 Romania 4021 210 1703 Russia 7 095 721 1404 Singapore 65 6415 3188 South Africa 27 11 442 8508 Spain 34 91 590 5200 Sweden 46 8 555 12700 Switzerland 41 (0) 61 717 95 55 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 662 651 8311 United Kingdom 44 20 8328 2000 Vietnam 848 823 6757



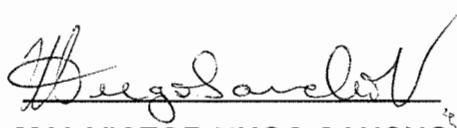
DIEGO ALFONSO ABARCA JIMÉNEZ



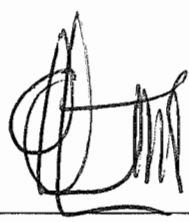
M.Sc. M.V. DENNIS SIGFRIED GUERRA CENTENO
ASESOR PRINCIPAL



M.V. BLANCA ZELAYA DE ROMILLO
ASESORA



M.V. VICTOR HUGO SANCHO
ASESOR



IMPRÍMASE: M.V. LEONIDAS ÁVILA PALMA

DECANO

