



Nuevos desafíos en el desarrollo de vacuna antirrábica.

New challenges in the development of rabies vaccine

✉ Bastian A. Cruzat^{1†}, Diego A. Villaseca^{1†}, Loredana Arata², Ninoska M. Nuñez³, Abel E. Vasquez^{2,4}

✉ 1 Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente. Universidad Tecnológica Metropolitana. Santiago; 2 Sección de Biotecnología, Departamento Agencia Nacional de Dispositivos Médicos, Innovación y Desarrollo, Instituto de Salud Pública de Chile; 3 Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Santo Tomás. Santiago; 4Departamento de Investigación, Postgrado y Educación Continua (DIPEC), Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Alba, Santiago, Chile. † Los autores comparten la primera autoría.

✉ Autor para correspondencia: Abel Vasquez Email: avasquez@ispch.cl

RESUMEN

La rabia es una zoonosis milenaria y la mayoría de los países desarrollados están libres de muerte humana por rabia transmitida por perros, pero la realidad es diferente a países de ingresos bajos y medios, donde es un problema de salud pública. En Chile estamos libres de rabia transmitida por animales domésticos y en los últimos años se han reportado casos muy esporádicos, pero que no han evolucionado a la muerte.

Para el control de la rabia, existen una variedad de vacunas humanas y veterinarias, que se aplican en diferentes países y en Chile se dispone de mas de una opción de vacunas humanos y veterinarias, pero existe un desafío en la vacunación de la fauna silvestre, donde se encuentra el reservorio del virus de la rabia, específicamente en los murciélagos, donde la disponibilidad de una vacuna es un desafío por abordar y sería un gran aporte para la erradicación de los reservorios silvestres del virus de la rabia.

Las vacunas mucosales en base a probióticos recombinantes que expresen proteínas del virus de la rabia se proyectan como una atractiva alternativa a evaluar para el desarrollo de una vacuna destinada a la vacunación de animales silvestres.



Palabras Claves:

Virus del moquillo canino; perro; zoonosis.

Keywords:

Canine Distemper Virus; dog; zoonotic.



ABSTRACT

Rabies is a millennial zoonosis, and most developed countries are free from human death from rabies transmitted by dogs. In low- and middle-income countries, however, it is a public health problem. Chile is free of rabies transmitted by domestic animals; cases that have been reported in recent years have been sporadic but have not progressed to death. To control rabies, a variety of human and veterinary vaccines are utilized around the world. In Chile, more than one vaccine option is available for humans and animals, but the challenge lies in vaccinating wildlife, where the reservoir of the rabies virus is located. Bats, in particular, is where vaccine availability presents a challenge that, if addressed, would be a great contribution to the eradication of the wild reservoirs of this virus. Mucosal vaccines based on recombinant probiotics expressing the rabies virus proteins are attractive alternatives that must be evaluated in the development of new vaccines for wild animals.



Copyright © 2020. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de la Creative Commons Attribution License (CC BY). El uso, distribución o reproducción en otros foros esta permitido, siempre que el/los Autor/es y el/los dueño/s de los derechos de autor sean acreditados y que la publicación original sea citada, en concordancia con la práctica académica aceptada. No usar, distribuir o reproducir si no se cumplen con estos términos.

Conflicto de Interés. Los autores declaran no tener conflicto de interés

Financiamiento. Los autores declaran ser funcionarios del Instituto de Salud Pública, no habiendo obtenido remuneración ni compensación económica alguna por la elaboración de este artículo.

RABIA, ENFERMEDAD Y EPIDEMIOLOGÍA

La rabia es una zoonosis milenaria de alta significancia global en salud pública, por su amplia distribución mundial y propagación entre reservorios animales (1), causada por un virus del género *Lyssavirus*, el cual contiene un genoma de ARN de simple hebra de polaridad negativa (2). La enfermedad cada año mata a unas 59.000 personas y causa más de 3,7 millones de años de vida ajustados por discapacidad en todo el mundo y 8.6 billones de dólares en pérdidas económicas (3,4).

La enfermedad se describe como una encefalitis viral que puede afectar a cualquier vertebrado homeotermo, implicando que prácticamente todos los mamíferos son susceptibles al virus de la rabia (5), siendo el perro el principal reservorio sobre todo en los países en desarrollo. En algunas regiones, donde la rabia en perros se ha controlado con campañas de vacunación, los quirópteros son los principales responsables de la conservación y transmisión del virus de la rabia (6). En Chile, la rabia urbana fue endémica hasta los años 1970, desde el año 1980, se han presentado casos de rabia en forma esporádica en animales domésticos sin que su fuente de infección pudiera ser identificada. Estos casos tuvieron la particularidad de ser de bajo el poder epidémico y se sugirió que la fuente de infección en estos eventos podría ser de origen silvestre (7).

En 1996 se reportó un caso en un niño de siete años de edad, confirmándose un murciélago insectívoro como su fuente de infección (*Tadarida brasiliensis*) (reporte ISP 2012-2017).

Las sintomatologías comunes de la rabia descritas según la Organización Mundial de la Salud van desde inicialmente fiebre, dolores musculares con una sensación inexplicable de hormigueos (parestias), a medida que va avanzando esta enfermedad se propaga por el sistema de nervioso central produciendo inflamación del cerebro, y a la médula espinal, describiendo a este punto que el paciente sufre de alucinaciones, fobias al aire, al agua, desórdenes emocionales y finalmente la muerte (8).

La rabia humana se puede prevenir mediante la administración inmediata de profilaxis post exposición después de una mordedura (3). Además, el virus puede eliminarse de las poblaciones de origen mediante la vacunación masiva de perros (9). Aunque la rabia se ha eliminado en los países de ingresos altos y se ha controlado en muchos países de ingresos medios, la rabia transmitida por perros sigue siendo endémica en gran parte de África y Asia, y las personas de las comunidades rurales pobres y los niños tienen más probabilidades de morir a causa de la enfermedad (4). En consecuencia, la rabia humana puede

describirse como una enfermedad de la pobreza (10).

En el continente americano y centroamericano existen tres especies de murciélagos que viven distribuidas de distinta forma en el continente sudamericano, estando *D. rotundus* presente en todo el sector latinoamericano, desde el sector tropical hasta subtropical, ocupando distintos ecosistemas como bosques húmedos tropicales, desiertos costeros, matorrales xéricos y regiones montañosas, donde los factores climáticos, como la temperatura, la humedad relativa y la cantidad de precipitaciones determina la distribución de la población mientras que a escala local, factores de intervención del hombre como la fragmentación de bosques ha estado relacionado con el crecimiento de la población de *D. rotundus* (11).

En Chile, los murciélagos existentes son principalmente insectívoros y están representados por al menos 4 géneros ampliamente distribuidos en el territorio, que corresponden a *Tadarida*, *Histiotus*, *Myotis* y *Lasiurus* (12). En contraste al resto de América Latina, la rabia canina ha disminuido notablemente en los últimos treinta años pero la rabia de los murciélagos sigue siendo notificada con frecuencia (12). Entre los años 2012 y 2017, fueron analizadas 10.050 muestras buscando la presencia del virus. De las cuales el 6,4% (648) resultaron positivas para virus rabia. El 95,9% (622) de las muestras positivas el virus rábico fue tipificado. De éstas, 570 correspondieron a variante viral asociada a reservorio *Tadarida brasiliensis*, 33 a variante viral asociada a reservorio *Lasiurus sp.*, 15 a variante viral asociada a reservorio a *Histiotus sp.* y 4 a variante viral asociada al reservorio de murciélago *Myotis chiloensis* (12). No fueron reportados casos de variantes virales caninas (V1 y V2) lo que indica que no existe circulación de ellas en el país. Demostrando que los murciélagos siguen siendo un reservorio y una fuente principal de contagio debido a las altas proporciones de murciélagos con resultados positivos del virus de la rabia (12).

Los murciélagos se consideran los principales huéspedes de los *Lyssavirus* (11), con 13 familias existentes y un estimado de 58 géneros y 339 especies reportadas en África (13).

Como se menciona al inicio, el virus de la rabia es un virus de ARN simple hebra de polaridad negativa de la familia de los virus *Rhabdoviridae* y del género *Lyssavirus*, teniendo un tamaño entre 11 kb a 15 kb, con una morfología de tipo bala. Consta de una envoltura rodeada de la glicoproteína G (gp-G) que es una proteína transmembrana de tipo I N-glicosilada en forma de trímeros en la superficie viral. El virión se compone de una nucleocápside de 5 genes monocistronicos que sintetizan las proteínas virales N, M, P, G y una ARN polimerasa. Esas 4 proteínas virales, cumplen un rol estructural en conjunto al sintetizar desde nucleoproteínas (N); que encapsulan el ARN viral, fosfoproteínas (P); la

proteína que genera la matriz del virión (M), la proteína G; que sintetiza las glicoproteínas anteriormente mencionadas y una ARN polimerasa dependiente de ARN que transcribe estas 4 últimas proteínas virales (1,5). La gp-G del virus rábico es una proteína expuesta que se encuentra anclada en la envoltura lipídica siendo el mayor determinante patogénico, pero también es el principal antígeno responsable de la inducción de la inmunidad protectora (6,14). La estructura de la glicoproteína se divide en dos sitios antigénicos II y III los cuales se han establecidos como segmentos de la proteína responsables de la interacción y fusión de membranas (15).

La Gp-G del virus rábico es una molécula de 65 a 67 kDa, que forma aproximadamente 400 proyecciones de peplómeros en la envoltura viral, extendiéndose a 8,3 nm de la membrana lipídica (14). Está compuesta de 505 aminoácidos, aproximadamente, y posee de dos a cuatro sitios potenciales de N-glicosilación, de los cuales sólo uno o dos son dependientes de la cepa viral, e importantes en el correcto plegamiento de la proteína. La estructura antigénica de la Gp-G ha sido determinada con el uso de anticuerpos monoclonales específicos. Un sitio antigénico se define como la sobreposición de varios epítopes. Este es el caso de los sitios antigénicos II y III de la Gp-G del virus rábico (16). Un sitio antigénico se define como la sobreposición de varios epítopes. Este es el caso de los sitios antigénicos II y III de la Gp-G del virus rábico (17). Otros epítopes, llamados anteriormente sitios I, IV, V, VI, G₁ y sitio menor, han sido también identificados usando los mismos procedimientos (18).

El sitio antigénico II está constituido por los residuos aminoacídicos 34-42 y 198-200 y el análisis de los fragmentos de la proteína ha evidenciado que los péptidos que contienen los aminoácidos 34-42 están unidos mediante puentes disulfuro con los péptidos de los aminoácidos 198-200. Así, se postuló que este sitio antigénico II resulta del plegamiento proteico que acerca dos regiones separadas de la Gp-G. Las mutantes con sustituciones en el sitio antigénico II, particularmente en el aminoácido 198, son menos patogénicas en animales adultos (19).

En el caso del sitio antigénico III se ha indicado que es el mayor responsable del mecanismo de patogenicidad del virus, ya que en contraste al sitio antigénico II su estructura es de tipo lineal extendiéndose en las posiciones 330-3407 de los aminoácidos que componen, siendo específicamente en la posición de arginina por glutamina o una glicina, afectan la integridad del sitio antigénico y anula por completo la patogenicidad a nivel de ratones adultos inmunocompetentes; sin embargo otros residuos aminoacídicos han sido asociados a la neurovirulencia; tal es el caso de los aminoácidos 164-303 y muy cercano a este sitio antigénico III, se encuentra el epítipo que consta de los

aminoácidos 342-343, que se describe que han demostrado la aminoácidos su mutación afecta en la reducción de la diseminación viral y el reconocimiento de receptores celulares que tienen que ver con el reconocimiento e internalización viral (20).

VACUNAS HUMANAS

En la actualidad existen tres tipos de vacunas contra el virus de la rabia para humanos:

vacunas de tejido nervioso, de cultivo celular y de huevo embrionario.

Las vacunas de cultivo celular (21,22,23) y las vacunas de huevos embrionados (24,25) han reemplazado a las vacunas de tejido nervioso en los países industrializados y son recomendados para su uso por la OMS. Se consideran seguras y bien toleradas (Briggs y cols., 2000, OMS, 2010 B) (26,27,28). Existe una alta probabilidad de supervivencia cuando se administra estos tres tipos de vacuna de forma oportuna y en los días que corresponde, ya que la encefalitis que causa la rabia es una de las enfermedades que provoca más muertes en el mundo y solo se han documentado 30 personas que sobrevivieron luego de presentar los síntomas (29).

Otros métodos de vacunación se basan en la profilaxis post exposición, que consiste en una dosis de inmunoglobulina antirrábica humana (IAH) y una vacuna antirrábica administrada el día de la exposición al virus de la rabia, y luego una dosis de la vacuna administrada nuevamente los días 3, 7 y 14. Para las personas que nunca antes se han vacunado contra la rabia, la profilaxis post exposición (PEP por su sigla en inglés) siempre debe incluir la administración tanto de IHA como de la vacuna contra la rabia. Se recomienda la combinación de HRIG y vacuna para exposiciones tanto por mordedura como sin mordedura, independientemente del intervalo entre la exposición y el inicio del tratamiento (30).

VACUNAS VETERINARIAS

Durante las dos últimas décadas se han realizado progresos considerables en la producción de vacunas antirrábicas, ya sean vivas o inactivadas, para uso animal, con el uso creciente de líneas celulares continuas como sustrato y la adopción de la tecnología de fermentadores para la producción de antígenos. Estas vacunas se producen para su administración a animales domésticos o a especies salvajes por vía parenteral u oral, según las características de la vacuna en base a las recomendaciones de la OMS (31,32).

Las vacunas de virus vivos modificados (MLV) y las vacunas inactivadas pueden producirse en cultivo celular,

utilizando cultivos primarios o líneas celulares continuas (33). Cabe esperar que el uso de vacunas inactivadas para la inmunización de animales aumente como resultado de las recientes mejoras en las técnicas de producción de vacunas.

La vacuna oral para la vida salvaje es una vacuna oral recombinante contra el virus de la rabia que protege a los mapaches y coyotes contra la rabia, reduciendo así el riesgo de exposición a la rabia de los seres humanos y los animales domésticos (34).

Una forma para vacunar animales de vida silvestre es la instalación de cebos con el virus vivo atenuado en lugares estratégicos, de esta manera cuando sea ingerido por el animal

y el virus se replique por vía oral o posterior a esto cuando se encuentre en intestino, sea capaz de conferir inmunidad (35).

DESAÍOS EN NUEVOS DESARROLLOS DE VACUNAS

Existen diferentes estrategias de desarrollo de nuevas vacunas antirrábicas y los esfuerzos están destinados principalmente a vacunas que se puedan aplicar a la fauna silvestre (36). Proteínas en base a Glicoproteína G recombinante o fragmento de esta proteína han sido ensayadas a nivel de laboratorio dando importancia a la tecnología simple de producción (37,38).

La tecnología de ARNm tiene un prometedor futuro para la vida silvestre (39), sin embargo, al ser una tecnología mayormente desarrollada para el uso humano, esto se considera una limitación ya que, habría que realizar una investigación y experimentar con mayor detalle para obtener conclusiones más contundentes si este tipo de vacuna puede adaptarse a los murciélagos (40).

Finalmente, el desarrollo de una vacuna mucosal en base a probióticos es una tecnología prometedora (41,42,43), son potentes para estimular el sistema inmune por medio de las mucosas, tienen una baja complejidad de producción y ofrecen una amplia oportunidad de formulación farmacéutica.

RELACIÓN ENTRE LA VACUNACIÓN DE ANIMALES SILVESTRES Y LA PROPAGACIÓN DE LA RABIA.

Los murciélagos son los principales responsables de la propagación de este virus en base a los diversos factores geográficos, formas de establecer barreras protectoras de industrias suburbanas, además de considerar factores en torno a la distribución de la población de los murciélagos (44,45).

Por otro lado, según investigaciones de otros autores, se ha analizado la relevancia que tienen los factores económicos en relación con las estrategias actuales de vacunación oral a animales salvajes como animales domésticos que viven en sectores periurbanos como urbanos, dando a entender que a pesar que tiene una alta efectividad, este tiene un costo asociado considerable, en torno a los múltiples costos logísticos para llevar a cabo estos procedimientos (31).

El desarrollo de una vacuna en base a probiótico recombinante como método de vacunación, es una alternativa atractiva para la inmunización de especies silvestres, ya que es capaz de poder acceder a lugares geográficamente difíciles de acceder mediante el desarrollo de esta tecnología; sin embargo, como perspectivas futuras este debe tener una base de datos actualizada constantemente de las cepas presentes en país y relacionada a los grupos de riesgos, en torno a las dosis necesarias para la aplicación en animales silvestres y tener en cuenta las áreas geográficas de riesgo, ya que una de las principales desafíos a tener en cuenta a futuro, sería el cómo asegurar al personal frente a posibles exposiciones al contagio de esta enfermedad con la efectividad de las estrategias de inmunización teniendo en cuenta los factores, económicos, geográficos y biológicos (46,47).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ross B A, Favi C M, Vásquez V A. Glicoproteína del virus rábico: Estructura, inmunogenicidad y rol en la patogenia [Rabies virus glycoprotein: structure, immunogenicity and pathogenic role]. Rev Chilena Infectol. 2008 Apr;25(2):S14-8. Spanish. Epub 2008 Apr 16
2. Brunner K, Mollentze N. Rabies virus. Trends in Microbiology 2018;26(10):886-7. doi: 10.1016/j.tim.2018.07.001.
3. WHO. WHO expert consultation on rabies: third report (No. 1012). Geneva: World Health Organization; 2018.
4. Hampson K, Coudeville L, Lembo T, Sambo M, Kieffer A, Atllan M, et al. Estimating the global burden of endemic canine rabies. PLoS Neglected Tropical Diseases 2015;9(4):e0003709.
5. Scott TP, Nel LH. Lyssaviruses and the Fatal Encephalitic Disease Rabies. Front Immunol. 2021 Dec 2;12:786953. doi: 10.3389/fimmu.2021.786953
6. Fooks AR, Cliquet F, Finke S, Freuling C, Hemachudha T, Mani RS, Müller T, Nadin-Davis S, Picard-Meyer E, Wilde H, Banyard AC. Rabies. Nat Rev Dis Primers. 2017 Nov 30;3:17091. doi: 10.1038/nrdp.2017.91.
7. Nieto D A. Antecedentes sobre rabia silvestre en la comunidad de Pirque. Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile, Santiago Chile. 1985.

8. World Health Organization (2019). Rabies- WHO [Sitio web]. Recuperado 19 de junio 2021, de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies>
9. Hampson K, Dushoff J, Cleaveland S, Haydon DT, Kaare M, Packer C, et al. Transmission dynamics and prospects for the elimination of canine rabies. *PLoS Biology* 2009;7(3):e53. [PubMed: 19278295]
10. Chagalucha J, Hampson K, Jaswant G, Lankester F, Yoder J. Human rabies: prospects for elimination. *CAB Rev.* 2021;16:039. doi:10.1079/pavsnnr202116039.
11. Nel LH, Rupprecht CE. Emergence of lyssaviruses in the Old World: the case of Africa. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2007;315:161-93. doi: 10.1007/978-3-540-70962-6_8.
12. Escobar LE, Peterson AT, Favi M, Yung V, Medina-Vogel G. Bat-borne rabies in Latin America. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2015 Jan-Feb;57(1):63-72. doi: 10.1590/S0036-46652015000100009
13. Coertse J, Geldenhuys M, le Roux K, Markotter W. Lagos Bat Virus, an Under-Reported Rabies-Related Lyssavirus. *Viruses.* 2021 Mar 29;13(4):576. doi: 10.3390/v13040576
14. Nitschel S, Zaack LM, Potratz M, Nolden T, Te Kamp V, Franzke K, Höper D, Pfaff F, Finke S. Point Mutations in the Glycoprotein Ectodomain of Field Rabies Viruses Mediate Cell Culture Adaptation through Improved Virus Release in a Host Cell Dependent and Independent Manner. *Viruses.* 2021 Oct 3;13(10):1989. doi: 10.3390/v13101989.
15. Da Poian AT, Carneiro FA, Stauffer F. Viral membrane fusion: is glycoprotein G of rhabdoviruses a representative of a new class of viral fusion proteins? *Braz J Med Biol Res.* 2005 Jun;38(6):813-23. doi: 10.1590/s0100-879x2005000600002
16. Dietzschold B, Wunner WH, Wiktor TJ, Lopes AD, Lafon M, Smith CL, Koprowski H. Characterization of an antigenic determinant of the glycoprotein that correlates with pathogenicity of rabies virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983 Jan;80(1):70-4. doi: 10.1073/pnas.80.1.70
17. Benmansour A, Leblois H, Coulon P, Tuffereau C, Gaudin Y, Flamand A, Lafay F. Antigenicity of rabies virus glycoprotein. *J Virol.* 1991 Aug;65(8):4198-203. doi: 10.1128/JVI.65.8.4198-4203.1991.
18. Prehaud C, Coulon P, LaFay F, Thiers C, Flamand A. Antigenic site II of the rabies virus glycoprotein: structure and role in viral virulence. *J Virol.* 1988 Jan;62(1):1-7. doi: 10.1128/JVI.62.1.1-7.1988
19. Evans JS, Selden D, Wu G, Wright E, Horton DL, Fooks AR, Banyard AC. Antigenic site changes in the rabies virus glycoprotein dictates functionality and neutralizing capability against divergent lyssaviruses. *J Gen Virol.* 2018 Feb;99(2):169-180. doi: 10.1099/jgv.0.000998
20. Castillo-Neyra R, Buttenheim AM, Brown J, Ferrara JF, Arevalo-Nieto C, Borrini-Mayorí K, Levy MZ, Becerra V, Paz-Soldan VA. Behavioral and structural barriers to accessing human post-exposure prophylaxis and other preventive practices in Arequipa, Peru, during a canine rabies epidemic. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020 Jul 21;14(7):e0008478. doi: 10.1371/journal.pntd.0008478
21. Yoder J, Younce E, Lankester F, Palmer GH. Healthcare demand in response to rabies elimination campaigns in Latin America. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Sep 26;13(9):e0007630. doi: 10.1371/journal.pntd.0007630
22. Jaiaroensup W, Lang J, Thipkong P, Wimalaratne O, Samranwataya P, Saikasem A, Chareonwai S, Yenmuang W, Prakongsri S, Sitprijia V, Wilde H. Safety and efficacy of purified Vero cell rabies vaccine given intramuscularly and intradermally. (Results of a prospective randomized trial). *Vaccine.* 1998 Oct;16(16):1559-62. doi: 10.1016/s0264-410x(98)00045-0
23. Lin F, Zeng F, Lu L, Lu X, Zen R, Yu Y, Chen N. The primary hamster kidney cell rabies vaccine: adaptation of viral strain, production of vaccine, and pre- and postexposure treatment. *J Infect Dis.* 1983 Mar;147(3):467-73. doi: 10.1093/infdis/147.3.467.
24. CDC. Human rabies prevention United States (2008). Recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP)
25. Ben-Nathan D. Production of poultry viral vaccines in embryonated eggs. *Adv Biotechnol Processes.* 1985;5:123-47.
26. Briggs DJ, Banzhoff A, Nicolay U, Sirikwin S, Dumavibhat B, Tongswas S, Wasi C. Antibody response of patients after postexposure rabies vaccination with small intradermal doses of purified chick embryo cell vaccine or purified Vero cell rabies vaccine. *Bull World Health Organ.* 2000;78(5):693-8.
27. Ashwath Narayana DH, Madhusudana SN, Sampath G, Tripathy RM, Sudarshan MK, Gangaboraiah, Ravish HS, Satapathy DM, Gowda G, Holla R, Ashwin BY, Padhi A, Manjula S, Patel PM. Safety and immunogenicity study of a new purified chick embryo cell rabies vaccine Vaxirab-N (Pitman-Moore strain) manufactured in India. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(1):120-5. doi: 10.4161/hv.26456
28. Plotkin S, Koprowski H, Rupprecht CE (2008). In Plotkin, Orenstein and Offit (Eds). *Vaccines: Saunders Elsevier;* 687-714.
29. Fisher CR, Lowe DE, Smith TG, Yang Y, Hutson CL, Wirblich C, Cingolani G, Schnell MJ. Lyssavirus Vaccine with a Chimeric Glycoprotein Protects across Phylogroups. *Cell Rep.* 2020 Jul 21;32(3):107920. doi: 10.1016/j.celrep.2020.10792
30. Castillo-Neyra R, Buttenheim AM, Brown J, Ferrara JF, Arevalo-Nieto C, Borrini-Mayorí K, et al. (2020) Behavioral and structural barriers to accessing human post-exposure prophylaxis and other preventive practices in Arequipa, Peru, during a canine rabies epidemic. *PLoS Negl Trop Dis* 14(7): e0008478