

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



BIOESTABILIDAD DE LA VACUNA ANTIRRABICA CEPA ROXANE
SOMETIDA A DIFERENTES TEMPERATURAS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

P.M.V.Z. ELIZABETH MARIA DE LA PAZ

A L V A R E Z F L O R E S

DIRECTOR DE TESIS:

M.V.Z. VICTOR CAMPOS GONZALEZ

A SESOR DE TESIS:

M.V.Z. DAVID AVILA FIGUEROA

GUADALAJARA, JAL OCTUBRE 1993

CONTENIDO

Página

RESUMEN.....	i
INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
JUSTIFICACION.....	10
HIPOTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	12
MATERIAL Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	22
CONCLUSIONES.....	24
BIBLIOGRAFIA.....	25

RESUMEN

Debido a que la rabia es una enfermedad zoonótica de tipo enzoótico en México y a que cada año diversas campañas antirrábicas, principalmente mediante la vacunación de mascotas domésticas, esto hace que se realicen trabajos en los cuales se evalúen las vacunas antirrábicas, ya que son la clave para el éxito de dichas campañas. Con el objeto de determinar la biostabilidad de la vacuna antirrábica de virus vivo modificado y liofilizado (cepa Roxanne), se evaluarán vacunas durante el período de 1985 a 1988, en las que se muestrearon 33 lotes control mantenidos en refrigeración por el laboratorio productor y 10 lotes de vacuna procedentes de diferentes farmacias comerciales. A estos lotes se les hicieron pruebas de titulación en ratones lactantes. Se integraron 6 grupos de vacunas en los cuales las pruebas de titulación dieron los siguientes resultados, para el grupo I mantenido a 4 C con lotes caducos y vigentes se observó que a los 35 meses bajo 1.8 logaritmos en promedio; en el grupo II obtenido de farmacias comerciales, la mayoría fue estable y tuvieron una baja promedio de .22 logaritmos; en el grupo III de vacunas sometidas a 37 C durante 96 horas tuvieron una baja promedio de 0.57 logaritmos; el grupo IV se expuso a una temperatura de 42 C también durante 96 horas, tuvo una baja promedio de 0.82 logaritmos; el grupo V que fueron vacunas reconstituidas y mantenidas en refrigeración durante 96 horas tuvo una baja de 0.5 logaritmos. Finalmente en cuanto al grupo VI de vacunas que se expusieron

a temperaturas alternantes no presentaron ninguna modificación en sus títulos. Lo anterior demuestra que el virus vacunal liofilizado es bastante estable y solo cuando es reconstituido o es sometido a temperaturas superiores a los 8 C por un tiempo prolongado disminuyen sustancialmente en sus títulos.

INTRODUCCION

Desde hace tiempo el hombre se ha enfrentado a la rabia, que por sus características es una de las enfermedades más temidas; además de que se conocen pocos casos de personas que se hayan recuperado después de presentar síntomas. Los antiguos griegos la llamaron "lyssa" o "Lita" que significa locura (9). La antigüedad de la rabia se remonta al quinto siglo antes de Cristo (Demócrito, Andrea de Carote, Aristoteles IV A.C.) relata que los perros sufren una enfermedad que los hace furiosos y a todos los animales que muerden llegan a sufrir la enfermedad. Virgilio menciona la enfermedad ya conocida pero no en el hombre. En los dos primeros siglos de la era cristiana, Celso y Galeno ya describen la rabia en el hombre asociándola a la mordida de perros rabiosos (10).

El primero en publicar un informe respecto a la rabia fue Pasteur, al señalar los síntomas y cambios histológicos en el sistema nervioso central de los animales afectados. En 1881 él y sus colaboradores fueron los primeros en utilizar un método de vacunación contra la rabia en caninos que consistió en la inyección subcutánea de una vacuna a partir de cerebro y cordón espinal de un animal infectado, utilizando hidróxido de potasio como agente secante. La idea que lo llevó al éxito fue que preparó una serie de vacunas con diferentes días de secado, mismas que empleó en inmunizaciones y cada vez con un título mayor de virulencia en el tejido; al momento de hacer un desafío con el virus de rabia directamente por vía intracerebral notó que los perros eran totalmente inmunes a la

enfermedad. En 1885, esta vacuna elaborada a partir del cerebro desecado se aplicó a Joseph Meister que fué mordido por un perro rabioso, salvándole la vida (3). Desde entonces se ha ido desarrollando diferentes tipos de vacunas; en 1911 se utilizó la primera vacuna para la aplicación masiva en perros preparado por Umero y Doi en Tokio, una vacuna inactivada de una sola dosis. En 1930 Kesler preparó una vacuna de virus fijo inactivado con cloroformo.

En 1937 se utilizó por Hodes y colaboradores una vacuna irradiada con luz ultravioleta para inactivar una virus fijo. Johnson en 1945 realizó una vacuna inactivada fenolizada de origen ovino. En 1948 Koproski y Cox obtuvieron la primer vacuna de virus vivo modificado de embrión de pollo. Desde entonces los métodos de producción de vacuna se han perfeccionado, logrando aumentar su seguridad y potencia. Las vacunas mas empleadas en la actualidad han sido desarrolladas en cultivos de tejidos celulares o cerebro de ratón lactante, estas vacunas son de virus inactivado o de virus activo modificado (4,5,6).

En el Continente Americano no existía la rabia sino hasta la colonización por los europeos. El primer testimonio de la Rabia en México fué en el año de 1709 en el mes de abril apartir de esa fecha y parece que fue debido a la introducción de un perro en el período de incubación que este haya sido el caso no frecuente que este período fuera demasiado prolongado y desembaraca el perro en aparente salud, lo que originara un brote de rabia. A consecuencia de esta el Hospital Real de San

José de los Naturales fue el primero en destinar una sala para atender a estos incurables enfermos, esto revela la gravedad del estado enzoótico de la rabia canina a partir del año de 1709. desde la época colonial fueron registrados aumentos periódicos de rabia canina con el consecuente incremento de la enfermedad en humanos.

De regreso de un viaje a Paris en 1888 el Doctor Eduardo Liceága presidente del Consejo Superior de Salubridad, trajo a México un cerebro de conejo inoculado con virus rábico e inmediatamente se procedió a reproducir el material y a efectuar la primeras inoculaciones. El 23 de Abril de 1888 los Doctores Eduardo Liceága y Agustín Reyes aplicaron la primera inyección antirrábica en México al niño Isidro Delgadillo. La producción de estas vacunas estuvo a cargo del M.V.Z. José de la Luz Gómez (15).

El Doctor Miguel Otero desarrollo tecnología y luego la producción de la vacuna en San Luis Potosí, simultaneamente e independientemente de la elaborada por el Doctor Liceága en la capital. La producción inicial siguió los lineamientos establecidos por Pasteur y tanto Liceága como Otero produjeron vacunas antirrábicas en tejido nervioso de animales adultos. Las cepas empleadas, provenían de las de Pasteur que se entrego al Doctor Liceága, en cambio Otero produjo las vacunas a partir de un virus rábico que aislo de "la calle" y que transformó en virus fijo. En el Instituto de la Higiene desde 1938 se estableció posteriormente la producción sistemática de la vacuna antirrábica con el virus fijo de Pasteur, desde

1938, la vacuna elaborada en esta institución fue de tipo Simple. A partir de 1967 dicha producción se continuó en el Instituto Nacional de Virología, en el que hasta la fecha se emplea la metodología de Fuenzalida y Palacios para obtener el producto biológico que consiste en una suspensión de tejido cerebral de ratones lactantes y que contiene 3 cepas de virus rabico fijo inactivado con luz ultravioleta (16).

Referente al desarrollo de metodos para evaluar la potencia de muhos lotes de vacunas antirrábicas, el ratón albino ha sido seleccionado como el animal más adecuado para el diagnóstico de rabia y la prueba de titulación en los lotes de vacunas; la edad de los ratones es un factor muy importante en sus suceptibilidad a la rabia, debiendo cumplirse los 21 días, de 9 a 11 gramos de peso aproximadamente. El propósito fundamental de los programas de vacunación, es la prevención de las enfermedades; una vacuna ideal debe ser : a) inmunogénica, b) Eficaz y de larga duración, c) Segura, d) Estable de fácil transportación, e) Barata (3).

Existen diversos factores que influyen en el logro de una vacunacion efectiva, como son el tipo de producto vacunal que se utilice, la inmunidad lograda por las vacunas de tipo virus vivo modificado o atenuado, es larga y duradera, mientras que los virus muertos o inactivados requieren de repetidas inmunizaciones; otro factor importante es la cantidad de virus vacunal contenido en una dosis la cual debe ser suficiente para lograr una respuesta inmune satisfactoria (17).

La constatación de la calidad de las vacunas antirrábicas para caninos y felinos en México, la establece la SARH (Subdirección de Verificación de Normas Técnicas) cuyos requerimientos mínimos establecen que los laboratorios deberán de asegurar el grado de protección y tener un título no menor de de 1×10^3 a la 3 DL 50 en 0.03 ml, vía intracerebral como mínimo durante todo el período de vigencia que ofrezca el producto por cada lote de vacuna. Otro de los requisitos es que la vacuna deberá estar libre de cualquier microorganismo o sustancia química que la contamine o afecte al paciente al recibirla. Estos mismos requerimientos a nivel mundial los rige la Organización Mundial de la Salud, en los Estados Unidos es controlado por la USDA (2, 3, 10). Siempre ha resultado difícil observar los resultados de la campaña ya que no se tienen datos reales, basándose siempre en los resultados prácticos en el hombre a causa de:

- a) La falta de auténticos testigos.
- b) El pequeño número de casos de Rabia en Humanos.
- c) La imposibilidad de tener en cuenta todos los factores que dificultan la comparación entre los distintos casos de exposición humana.

Ademas es necesario evaluar la vacuna antes de su distribución para su uso Médico y Veterinario. En la evaluación de toda prueba de potencia de la vacuna antirrábica parecen intervenir 3 importantes consideraciones en primer lugar debe de evaluarla en forma cuantitativa para que

determine se eficiencia en la profilaxis de la rabia humana o animal, también debe simular en un huésped susceptible a las condiciones de exposición espontánea y del tratamiento preventivo. Por lo tanto este método no se puede aplicar en el hombre, así que se utilizan otras especies que sean susceptibles, la mayor parte de las pruebas se inician después de la inoculación experimental inoculando varias dosis de vacuna seguida de la inoculación intracerebral de virus fijo, pues es el tipo de exposición más fácil de controlar y normalizar, por lo contrario las vacunas de virus vivo preparadas en embriones de pollo, como son las empleadas en la práctica veterinaria se administran antes de la exposición de una sola dosis y su efecto inmunizante depende de la multiplicación del virus atenuado, para ensayar la actividad de esas vacunas se precisan animales para los que las cepas de virus vacuna sean avirulentas y sin embargo, capaces de multiplicarse.

La segunda consideración importante en las pruebas de potencia es de carácter práctico: la facilidad de ejecución y la disponibilidad de material necesario, el costo y tiempo requerido.

La tercera consideración se refiere a la normalización de las técnicas de ensayo, de modo que sean comparables los resultados obtenidos con distintas vacunas en un mismo laboratorio o laboratorios diferentes, los mejores resultados se obtienen con animales pertenecientes a una colonia cerrada

El virus rábico es de forma cilíndrica con un extremo redondeado y el otro aplanado: su forma, como la de otros virus pertenecientes a la misma familia ha sido comparada a la de una bala.

Los estudios con tinción negativa han revelado una superficie cubierta de proyecciones superficiales (peplómeros) de 6 a 8 nanómetros de largo con el extremo libre redondeado, dándole a los peplómeros la apariencia de una perilla.

El virus rábico esta consituido por 4 proteínas mayores y una proteína menor. La proteína de peso molecular mas alto del virión es una glicoproteína (G) de 80,000 daltons de peso molecular y en cantidad aproximada de 1,783 unidades por virión. Sigue en tamaño una proteína de nucleocápside (N) de 62,000 daltons de peso, en cantidad de 1,713 por virión. Sigue una nucleoproteína menos de 50,000 daltons de peso molecular en cantidades de 76 por virión. La segunda proteína de envoltura (M) la primera es la glucoproteína ya mencionada con 40 daltons de pesos molecular se encuentra en cantidades de 789 por virión y por último la tercera proteína de envoltura (L) con un peso molecular de 25,000 daltons en cantidades de 1,661 unidades por virión „

El virus es lábil y se inactiva fácilmente con la ebullición a temperaturas de pasteurización o con la aplicación de desinfectantes como cloruro de mercurio, formaldehído, jabón, éter, cloroformo, acetona, el etanos al 47 - 70%, preparados yodados y los compuestos cuaternarios de

amonio. Otras propiedades importantes son, resistencia a la desecación, así como a la congelación y descongelación repetidas, la estabilidad relativa a un pH entre 3 y 11 y la sensibilidad a la temperatura de pasterurización y a la luz ultravioleta. El ácido nucleico es fácilmente inactivado por la beta - propiolactona. En tejidos autolizados mantiene su viabilidad hasta por 72 horas y aún más cuando se conserva en glicerina.

El virus de la rabia puede introducirse fácilmente al organismo a través de mordeduras, aunque también puede atravesar las membranas mucosas enteras o entrar por el tubo digestivo pero nunca traspasa la piel intacta.

En el organismo el virus se difunde en sentido centrípeto, sobre todo por el sistema nervioso, en el punto de inoculación permanece hasta 18 días. (7)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La rabia es una zoonosis de caracter enzoótico; en México se presenta en varias especies animales en las que el perro es el principal reservorio y transmisor; tiene grandes repercusiones en la Salud Pública ya que en los últimos 5 años el promedio anual de perros diagnosticados con rabia en el laboratorio fue de 5,000, los cuales fueron responsables del 85 % del total de los casos de rabia en humanos, cuyo número de defunciones anualmente fue de 80; se estima que 100,000 personas son agredidas anualmente y que de estas el 50% son sometidas a tratamientos antirrábicos completos ...

La cobertura anual de vacunación entre los perros ha sido estimada en un 30% del total de la población canina del país, por ello es muy importante considerar las campañas de vacunación, las cuales se deben realizar de manera adecuada y con el personal capacitado, puesto que estos factores influyen grandemente sobre el éxito de dichas campañas.

JUSTIFICACION

Uno de los mecanismos mas importantes para el control de la Rabia es la vacunación de los animales susceptibles. La Organización Mundial de la Salud ha recomendado que las vacunas para uso en animales deben de ser controladas en forma apropiada, en especial lo relacionado con su estabilidad, sobre todo cuando se trate de vacunas de virus vivo modificad, dichas pruebas son requeridas en México porque las condiciones climáticas son muy extremosas en algunas regiones, anualmente se distribuyen un promedio de 2'680,974 dosis de vacuna antirrábica através de campañas de vacunación promovidas por diferentes organismos oficiales.

Las condiciones de manejo y almacenamiento afectan la estabilidad y propiedades inmunogénicas de la vacuna antirrábica ya que muchas son transportadas por carretera o avión y el tiempo en ocasiones suele prolongarse, lo cual porvoca la ruptura de la cadena fría, si se desconocen los rangos de estabilidad de las vacunas afectadas, estas pueden ser eliminadas aunque probablemente aún tengan capacidad inmunogénica, por lo que es importantee desarrollar pruebas de potencia y estabilidad para establecer o normar un criterio sobre uso y seguridad.

HIPOTESIS

El tiempo de almacenamiento y las variaciones de temperatura a las que son sometidas la vacunas son los principales factores que modifican sus propiedades biológicas; si se trata de vacunas de virus vivo modificado los cambios bruscos de temperatura son el factor mas importante que afecta la estabilidad de dicha vacuna.

OBJETIVOS**Objetivo General:**

Evaluar la estabilidad Antigénica de 43 lotes de vacuna antirrábica (Cepa Roxane) de virus vivo modificado mediante la inoculación en ratones.

Objetivos Particulares:

- 1.- Determinar el título viral de la vacuna antirrábica cepa Roxane a partir de 10 lotes seleccionados al azar, obtenidos de diferentes refrigeradores de farmacias veterinarias comerciales y de 33 lotes control mantenidos en refrigeración óptima durante su vigencia y después de la fecha de caducidad.
- 2.- Establecer la resistencia de la vacuna antirrábica una vez que haya sido sometida a diferentes temperaturas y a cambios bruscos de temperaturas.
- 3.- Determinar el tiempo de estabilidad de la vacuna antirrábica una vez reconstituída.



OFICINA DE
MINISTERIO DE SALUD

MATERIAL Y METODOS

Durante el período de 1985 a 1988 se muestrearon 33 lotes de vacuna antirrábica (cepa Roxane) de virus vivo modificado y liofilizado, mantenidas en refrigeración entre 2 y 4 C, así mismo se adquirieron 10 lotes de vacunas procedentes de 10 farmacias veterinarias en condiciones de refrigeración propias de los distribuidores.

Los lotes de vacuna obtenidas se ordenaron por grupos de la siguiente manera:

GRUPO I.- 20 lotes de vacuna mantenidas a 4 C en el laboratorio durante su vigencia y caducos.

GRUPO II.- 10 lotes de vacuna mantenidas en refrigeradores de farmacias comerciales (lotes con fechas vigentes).

GRUPO III.- 3 lotes de vacuna sometidos a una diferente temperatura, temperatura ambiente de 37 a 42 C.

GRUPO IV.- 3 lotes sometidos a una diferente temperatura, temperatura ambiente de 42 .

GRUPO V.- Un lote de vacuna reconstituida y mantenida en refrigeración durante 96 horas.

GRUPO VI.- 6 lotes expuestos a temperaturas alternantes con intervalos de 2 horas de 4 a 37 C y de 4 a 42 C a bajar a 4 C.

Con cada grupo se realizaron 4 diluciones logarítmicas en base 10 (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) y se inocularon por vía intracerebral 10 ratones por dilución, que en total fueron 1720 ratones albinos de la cepa CD1, la edad de estos fue de 21 días y la cantidad de inóculo fue de 0.03 ml de cada una de las diluciones. Los cambios clínicos fueron revisados diariamente y se anotaron los cambios clínicos detectados en una tarjeta de control, se consideraron positivos a rabia aquellos que presentaban parálisis del tren posterior a partir del sexto día después de inoculado; después de transcurridos 21 días de observación se procedió a sacrificar todos los animales y se calculó el título viral mediante el método de Reed y Muench (10).

RESULTADOS

En la presente evaluación de vacunas de virus vivo modificado en el Grupo I mantenido en refrigeración a 4 C. se observó que a los 35 meses de elaborado tuvo una baja de 1.8 logaritmos de su título original; en el lote que se título, a los 30 meses posterior a su elaboración se detectó una baja de 1.07 logaritmos; en los lotes de 22 meses de elaborados la baja fué de 0.55 logaritmos; el promedio de los lotes de 21 meses la pérdida fue de 0.56 logaritmos; en los lotes de 18 meses la baja del título fue de 0.19 logaritmos y en los lotes con un tiempo de 15 meses de elaboración la baja fue de solo 0.26 logaritmos. En cuanto al Grupo II de lotes captados en Farmacias Comerciales, se encontró que la mayoría fué estable y tuvieron una baja promedio de 0.22 logaritmos. El Grupo III que se expuso a una temperatura de 37C durante 96 horas, tuvo una baja en su título de 0.57 logaritmos en promedio. El Grupo IV que se expuso a una temperatura de 41 C durante una semana, tuvo una perdido de 0.82 logaritmos en promedio. El Grupo V de vacuna reconstituída y mantenida a 4 C durante 96 Hrs tuvo una pérdida de 0.5 logartimos, y en el Grupo VI de vacunas expuestas a temperaturas alternantes con intervalos de 2 horas no se encontró variación en ninguno de los lotes.

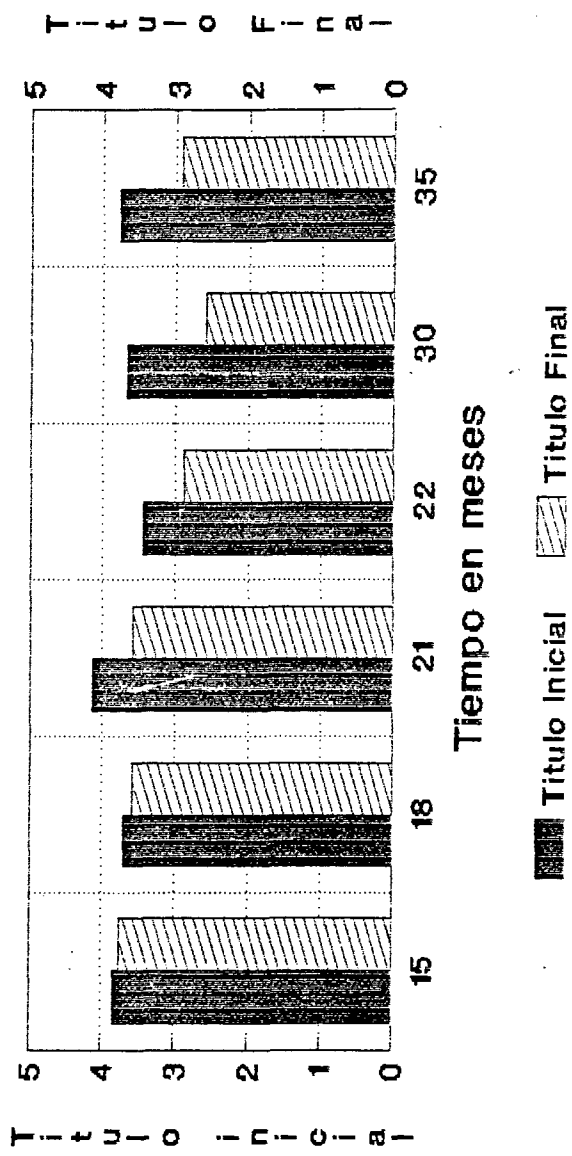
Cuadro # 1

Tiempo transcurrido y titulos obtenidos de los lotes de vacuna obtenidos de los lotes de vacuna antirrabica de virus vivo modificado Cepa Roxanne mantenida en refrigeracion constante a 4 C en laboratorio productor

Grupo I

Bloque	Numero de lote	Titulo Original	Tiempo Transcurrido en meses	Titulacion Final	Diferencia de Titulos
1	D-0585-1	1 X 10 3.0/0.03 ml	35	1 X 10 0.54/0.03 ml	2.46
	D-0285-10	1 X 10 3.5/0.03 ml		1 X 10 2.0/0.03 ml	1.5
	D-0285-15	1 X 10 4.8/0.03 ml		1 X 10 3.31/0.03 ml	1.49
2	D-2585-1	1 X 10 3.9/0.03 ml	30	1 X 10 2.68/0.03 ml	1.22
	D-0986-2	1 X 10 3.43/0.03 ml		1 X 10 2.5/0.03 ml	0.93
3	D-0886-4	1 X 10 3.15/0.03 ml	22	1 X 10 2.64/0.03 ml	0.52
	D-2186-1	1 X 10 3.64/0.03 ml		1 X 10 2.5/0.03 ml	1.14
	D-1386-2	1 X 10 3.5/0.03 ml		1 X 10 3.5/0.03 ml	0
4	D-1386-1	1 X 10 4.36/0.03 ml	21	1 X 10 3.42/0.03 ml	0.94
	D-1686-1	1 X 10 4.24/0.03 ml		1 X 10 4.17/0.03 ml	0.07
	D-1886-2	1 X 10 4.35/0.03 ml		1 X 10 3.51/0.03 ml	0.84
	D-1286-7	1 X 10 3.58/0.03 ml		1 X 10 3.16/0.03 ml	0.42
5	D-1286-8	1 X 10 4.08/0.03 ml	18	1 X 10 4/0.03 ml	0.08
	D-1886-2	1 X 10 4.5/0.03 ml		1 X 10 4/0.03 ml	0.5
	D-1786-2	1 X 10 3.5/0.03 ml		1 X 10 3.6/0.03 ml	+0.1
	D-1986-1	1 X 10 3.24/0.03 ml		1 X 10 3/0.03 ml	0.24
	D-1786-1	1 X 10 3.58/0.03 ml		1 X 10 3.1/0.03 ml	0.48
	D-1986-2	1 X 10 3.29/0.03 ml		1 X 10 3.3/0.03 ml	+0.02
6	D-3386-1	1 X 10 3.56/0.03 ml	15	1 X 10 3.8/0.03 ml	+0.24
	D-3386-2	1 X 10 4.1/0.03 ml		1 X 10 3.6/0.03 ml	0.5

Distribucion de titulos y tiempo transcurrido en vacunas refrigeradas en el laboratorio



Grupo I
Grafica # 1

Cuadro # 2

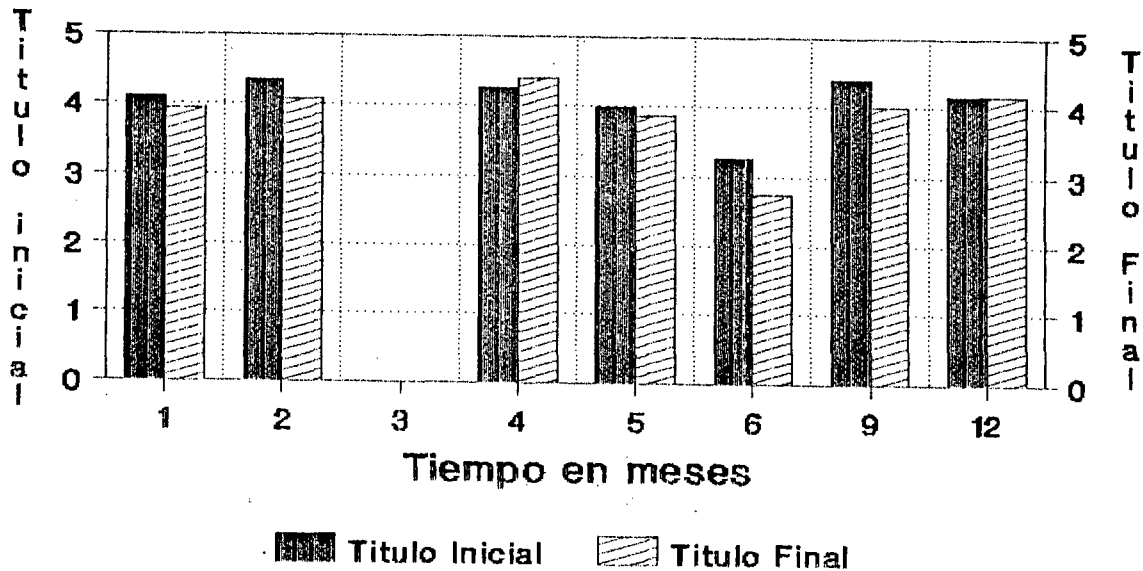
Tiempo transcurrido en meses y titulos obtenidos de la vacuna antirrabica cepa Roxane captados en diferentes Farmacias Comerciales (Grupo II).

Numero de lote	Titulo Inicial	Tiempo transcurrido en meses	Titulo Final	Diferencia de Titulos
D-1988-1	1 X 10 3.83/0.03 ml	1	1 X 10 3.76/0.03 ml	0.07
D-1988-3	1 X 10 4.37/0.03 ml		1 X 10 4.13/0.03 ml	0.4
D-0388-1	1 X 10 4.2/0.03 ml	2	1 X 10 4.1/0.03 ml	0.1
D-0888-1	1 X 10 4.05/0.03 ml		1 X 10 4.05/0.03 ml	0.29
D-2788-1	1 X 10 4.26/0.03 ml	4	1 X 10 4.28/0.03 ml	+0.02
D-1288-1	1 X 10 4.4/0.03 ml	5	1 X 10 3.88/0.03 ml	0.52
D-8737-1	1 X 10 3.58/0.03 ml		1 X 10 3.85/0.03 ml	+0.25
D-8734-1	1 X 10 3.27/0.03 ml	6	1 x 10 2.75/0.03 ml	0.52
D-8734-2	1 x 10 4.4/0.03 ml	9	1 X 10 4/0.03 ml	0.4
D-8702-1	1 X 104.16/0.03 ml	12	1 X 10 4.16/0.03 ml	0



OFICINA DE
REGISTRO Y CONTROL

Distribucion de titulos y tiempo transcurrido en vacunas captadas en Farmacias Veterinarias



Grupo 2
Grafica # 2

Cuadro # 3

Tiempo transcurrido en horas y titulos obtenidos de la vacuna antirrabica Cepa Roxane mantenida a 37 - 42 Centigrados sin reconstituir y a 4 C despues de reconstituida (Grupos III, IV y V)

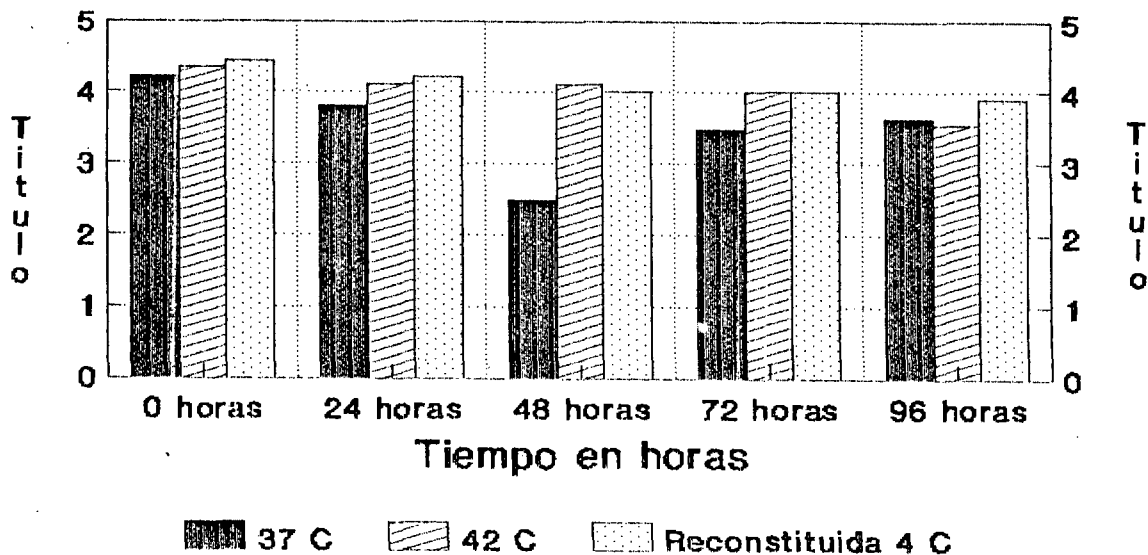
Temperatura	No. de lote	0 horas	24 Horas	48 Horas	72 Horas	96 Horas
37 C Grupo III	D-0388-2	3.83	3.34	3.34	3.34	3.4
	D-1988-3	4.37	3.68	3.20	3.62	4
	D-2088-2	4.4	4.4	3.4	3.43	3.48
42 C Grupo IV	D-0388-1	4.2	3.7	3.81	3.65	3.65
	D-2088-2	4.4	4.21	4.1	4	3.48
	D-2688-2	4.5	4.4	4.44	4.37	3.5
Reconstituida a 4 C grupo V	D-2788-1	4.44	4.2	4	4	3.9

Cuadro # 4

Tiempo transcurrido en horas y titulos obtenidos de la vacuna antirrabica cepa Roxane sometida a temperaturas alternantes (4, 37 y 42 C) con intervalos de 2 horas (Grupo No. VI)

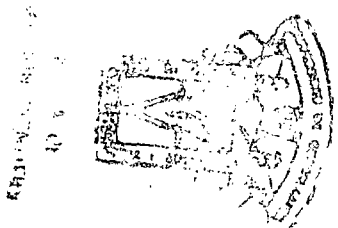
	Lote	T. Inicial	2 Horas	2 Horas
Bloque I		4 C	37 C	4 C
4 - 37 - 4	D - 2788 - 3	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml
	D - 2588 - 2	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml
	D - 2488 - 1	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml
Bloque II		4 C	42 C	4 C
4 - 42 - 4	D - 2888 - 3	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml
	D - 2588 - 2	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml
	D - 2488 - 1	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml	1 X 10 4.5/0.03 ml

Tiempo transcurrido en horas y títulos obtenidos de la vacuna antirrabica cepa Roxane.



Grupos III, IV y V

Grafica # 3



DISCUSION

El grupo de vacunas próximas a la caducidad y las caducas, mantenidas en refrigeración constante de 4 C se observó que a partir del 15 vo mes de producidas la baja en título fue de 0.13 logartimos y al llegar a los 35 meses la disminución fue de 1.6 logaritmos, esto significa que la baja de títulos fue congruente con la fecha de caducidad de las vacunas marcadas por los laboratorios. También se observó que aquellos lotes con títulos superiores a 10 4,5 eran más estables y su pérdida de títulos era menos, así mismo las vacunas con estos títulos aunque estuvieron caducas, todavía tenían títulos aceptables según el requisito marcado por la SARH. En el grupo de vacunas captadas en farmacias comerciales, se observó que la mayoría de estas había mantenido sus títulos con un escaso margen de diferencia, solo uno de estos lotes estaba muy por debajo del requisito mínimo, aunque se desconoce el manejo que se le dió, se puede suponer que fué debido al rompimiento de la cadena fría, por lo que se puede señalar que es posible encontrarnos vacunas no aptas para su aplicación en algunas farmacias comerciales. Por otro lado en el grupo de vacunas mantenidas a una temperatura de 37C se observo que en el trancurso de 96 horas de exposición, todos los lotes mostraron un comportamiento regular en cuanto al descenso de títulos, estos confirma que el calor prolongado si hace descender los títulos en forma gradual, lo cual conincide con otros trabajos similares (2).

En contraste, el grupo de vacunas sometidas a un calor constante de 42 C por 96 horas, presentaron un descenso mayor en sus títulos, esto indica que el daño a las vacunas es mayor comparativamente contra de 37 C. En el grupo de vacunas reconstituidas y mantenidas en refrigeración a 4 C se observó que la pérdida promedio por día fue de 0.1 logaritmos, lo cual resulta mayor que en las mantenidas liofilizadas; debido a esto, es importante seguir las recomendaciones de los laboratorios en el sentido de que una vez reconstituida la vacuna, debe aplicarse inmediatamente, también se observó que vacunas con títulos mayores a 10^{4,5} podrían ser usadas aún a las 96 horas posteriores a ser reconstituidas, ya que sus títulos todavía estaban dentro de los requisitos mínimos, Por último, en el grupo de vacunas sometidos a temperaturas alternante, no se observaron modificaciones en sus títulos virales, aunque se esperaba lo contrario, por lo que pudiera ser que para tener modificaciones en sus títulos, falte un mayor tiempo de exposición.

CONCLUSIONES

- 1.- La vacuna antirrábica Cepa Roxane de virus vivo activo modificado liofilizado mantenida en refrigeración constante, presenta la disminución progresiva de sus títulos virales cuando es almacenada por tiempos prolongados.
- 2.- La disminución en títulos virales de las vacunas es más constante cuando se aplica conjuntamente con temperaturas superiores a los 8 C por tiempo prolongado.
- 3.- Los títulos de las vacunas reconstituidas tienen una baja rápida y progresiva con relación al tiempo, aunque se hallen mantenidas entre los 4 y 8 C.
- 4.- En las vacunas obtenidas de farmacias comerciales se encontró que hasta un 10 % de ellas no llenan los requisitos mínimos para su uso.



INSTITUTO DE
HIGIENE Y EPIDEMIOLOGIA

BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Acha, P.N. Revisión de la prevención y el control de la rabia en América 1970 - 1980. Infectología Vol. 11 (5). 1983. pp 269 - 284.
- 2.- Avila, F.L., Orozco, D.M.M. Determinacion de la estabilidad y viabilidad de una vacuna antirrábica de virus vivo, sometido a temperatura ambiente y 37 centígrados. Tesis de Licenciatura. F.M.V.Z. U. de G. 1991.
- 3.- Baer, G.M. Rabia. La Prensa Mexicana S.A. 1982. pp 73 - 80, 136 - 137, 195 - 202.
- 4.- Code of Federal regulations 1986, animals and animal products of U.S.A. 1986. pp 448 - 451.
- 5.- Correa, G.P. Enfermedades virales de los animales domésticos. Segunda Edición. 1980. pp 5 - 44.
- 6.- Hernández B.E. Virus rábico. Infectología. Vol II. 1982. pp 353.
- 7.- Fenner y White. Virología médica. La Prensa Médica Mexicana S.A. 1981. pp 384 - 394.

- 8.- Horzinek, K.M. Compendio de virología general. Editorial Hemisferio Sur. 1980. pp 71 - 73.
- 9.- Jaramillo, B.M. Determinación de la potencia de la vacuna antirrábica Acatlán V-319 en cobayos. Tesis profesional. I.P.N. 1979.
- 10.- Kaplan, M.M. La Rabia. Técnicas de Laboratorio O.M.S. 1975. pp 294 - 302, 348 - 354.
- 11.- Latorre, V.F., Ortega, S. Estudio del mercado de productos veterinarios mexicanos. Graf Internacional S.A. México D.F. 1987.
- 12.- Luria, A. General Virology. Wiley. Vol. III. 1970. pp 12 - 14.
- 13.- Melgarejo, B.E., Weimersheimer, R.J., Hernández, B.E. Caducidad acelerada de la vacuna antirrábica V - 319 Acatlán, inactivada a 37 C sin irradiación solar. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. 1987. pp 324 - 327.
- 14.- Ruiz, H.S. Rabia en caninos vacunados con virus vivo modificado cepa Flury. Revista del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. 1982. pp 65 - 67.

- 15.- Dirección General de Sanidad Animal. Programa de Vacunación Nacional contra la Rabia. Folleto informativo 1987.
- 16.- S.A.R.H. Requerimientos mínimos de calidad que deberán llenar los productos biológicos para uso veterinario, Departamento de Control de productos biológicos , farmacéuticos, alimenticios y equipos para animales, Subsecretaría de Ganadería, Dirección General de Sanidad Animal. México D.F. Noviembre de 1977. Cap. IV: C- 2.
- 17.- Sikes, R.K. y cols. Rabies vaccines: Duration of immunity study in dogs. Journal American Vet. Med. Assoc. 1985. pp 1491 - 1999.
- 18.- Tizard, I.R. Inmunología Veterinaria. Editorial Panamericana. 1982. pp 198, 219 - 247.
- 19.- Téllez, G. Apuntes de la historia de la Rabia en México. Extracto de una conferencia sobre el tema, Curso de actualización de Diagnóstico de Rabia realizado en la Facultad de Medicina Veterinaria de la U.N.A.M. 1976. pp 37 - 46