

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



UCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

EVALUACION DE PRUEBAS DE SEGURIDAD CON LA CEPA
VACUNAL LEDERLE DE DISTEMPER CANINO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ROSA NAVARRO VIZCARRA

DIRECTOR DE TESIS:

M.V.Z. VICTOR CAMPOS GONZALEZ

ASESOR: M.V.Z. CARLOS MICHEL CHAGOLLA

GUADALAJARA, JAL.

MAYO 1992

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

Que con su comprensión
y apoyo hicieron posible
la realización de
mi carrera como profesio-
nista.

A MIS HERMANOS:

ALICIA, MARIA DEL CARMEN,
CARLOS, MAGDALENA, VICTOR
MANUEL, MARGARITA Y EN ES
PECIAL A CRISTINA..
por sus buenos consejos y
gran apoyo.

A ROSSANA V.:

Por su apoyo incondicio-
nal en todo momento para
salir adelante, aun más
en lo difícil del camino.
Gracias por todo.

AGRADECIMIENTOS

A MIS MAESTROS:

Por sus conocimientos transmitidos, que hicieron de mí lo que soy; y así, poder llegar a la finalización de mi carrera profesional.

A MIS ASESORES:

M.V.Z. VICTOR CAMPOS GONZALEZ.

M.V.Z. CARLOS MICHEL CHAGOLLA.

Por su gran ayuda y valioso tiempo dedicado en la realización del trabajo.

A MIS AMIGOS:

Que me ofrecieron su amistad y cariño: mi recuerdo.

CONTENIDO

	Página
Resumen.....	1
Introducción y Antecedentes.....	2
Planteamiento del Problema.....	10
Justificación.....	11
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	13
Material y Métodos.....	14
Resultados.....	18
Discusión.....	35
Conclusiones.....	37
Bibliografía.....	38

RESUMEN

El distemper canino es una enfermedad viral altamente contagiosa en los perros jóvenes, que se caracteriza por temperatura periódica, leucopenia, secreciones mucopurulentas óculo-nasales, neumonía catarral, gastroenteritis severa y ocasionalmente signos neurológicos.

Por lo cual una de las principales preocupaciones del médico veterinario dedicado a las pequeñas especies es la efectividad y calidad de los biológicos que utiliza en su práctica diaria.

Debido a la falta de información sobre las pruebas de seguridad en biológicos elaborados en México, una evaluación de dichas pruebas para la cepa vacunal Lederle de distemper canino en su forma monovalente así como polivalente fue de utilidad para todo el gremio veterinario.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo la cepa vacunal Lederle contra distemper canino no ocasionó problemas post-vacunales ni signos de enfermedad en cachorros de 8 a 14 semanas de edad. Por consiguiente, podemos mencionar que la cepa vacunal Lederle ha demostrado ser segura e inocua, ofreciendo al médico veterinario la seguridad requerida dentro de sus programas de vacunación en la práctica diaria.

INTRODUCCION

El distemper, moquillo canino o enfermedad de Carré es una enfermedad viral altamente contagiosa en los perros jóvenes, que se caracteriza por temperatura periódica, leucopenia, secreciones mucopurulentas óculo-nasales, neumonía catarral, gastroenteritis severa y ocasionalmente signos neurológicos (20,22).

El agente causal del distemper canino pertenece al genero Morbillivirus de la familia Paramyxoviridae (28). El virus fue descrito originalmente por Carré en 1905 y confirmado por Dunkin y Laidlaw en 1926.

Este virus afecta principalmente animales carnivoros. Los huéspedes naturales incluyen todos los miembros de la familia Cánidos (dingo, zorra, coyote, lobo, chacal), Mustélidos (hurón, mink, zorrillo, tejón, martha comadreja) y Prociónidos (mapache, panda, coati, kinkajou). Estudios recientes han informado que el distemper también afecta a focas (18, 19, 20, 22, 28).

El moquillo canino se ha podido prevenir, con buenos resultados, por medio de la inmunización, aunque ocasionalmente se han observado fallas vacunales en las que los animales no han quedado protegidos (22).

Recientemente los veterinarios han informado que el número de casos de moquillo se ha incrementado, presentándose en perros que habían sido inmunizados, incluso repetidas veces, con las diferentes clases de vacunas, dando la impresión de que ninguna vacuna comercial serviría para proteger a los animales (22).

Llama la atención que desde 1980 veterinarios del Reino Unido, Australia, Suiza y Nueva Zelanda también han observado una mayor presentación de moquillo y un incremento en la frecuencia de fallas vacunales (22).

Esto indica que no sólo en México se ha aumentado la incidencia de moquillo, sino en otros países (22).

La vacuna debe ser utilizada para prevenir enfermedades clínicas o para disminuir el efecto de infección viral (23).

La vacunación supone aplicar a un animal un antígeno procedente de un agente infeccioso de manera que aparezca una respuesta inmune y se consiga la resistencia contra dicho agente (1, 13, 29).

Al igual que otros fenómenos biológicos, la respuesta inmune no confiere nunca protección absoluta, y no resulta igual en todos los integrantes de una población vacunada, puesto que la respuesta inmune depende de un gran número de factores genéticos y ambientales (6, 29).

Otro grupo de fracasos aparentes de las vacunas guarda relación con ciertas circunstancias en las cuales queda reprimida la respuesta inmune, por ejemplo, no se debe vacunar a los animales intensamente parasitados o desnutridos, en cualquier situación de estres en general, incluyendo la preñez, el frío o calor extremo, la fatiga o la desnutrición; éstos inhibirán la respuesta inmune normal (1, 3, 6, 29, 30).

Otras causas de fracaso real de vacunación pueden obedecer a que el animal vacunado ya estuviera incubando el padecimiento antes de la vacunación (29).

Existen varias causas por las que falla la inmunización, pero la más importante es la interferencia por inhibición de los niveles de anticuerpos maternos (6, 12, 15, 29). En el perro sólo una pequeña porción de éstos atraviesa la placenta para llegar a la sangre fetal. La mayoría se ingieren a partir del calostro, durante las primeras horas de vida del cachorro (6, 10).

La hipersensibilidad inmediata puede ser causada por estimulación con antígenos no virales, como los antígenos celulares o ingredientes de medios de cultivo (7, 23, 31). Hay casos registrados de sensibilidad a la penicilina en un gato; la combinación penicilina-estriptomicina puede ser usada durante la producción de cultivo de células (31).

Estabilizadores que contienen productos lácteos y desactivadores como el formaldehído que son añadidos durante el proceso final pueden inducir a reacciones inmediatas de hipersensibilidad (11, 23).

En adición a los factores de la víctima, las vacunas pueden fallar si no son manejadas y administradas correctamente. Se han citado malos manejos que pueden causar que la vacuna no inmunice. El almacenaje no apropiado (calor o frío excesivo) puede inactivar vacunas (9, 21, 23).

Hasta la fecha ningún programa de vacunación ha resuelto el problema de la interferencia de los anticuerpos maternos con la inmunización (6).

Es imposible poner esquemas apropiados para todas y cada una de las vacunas disponibles en medicina veterinaria, pero existen ciertos principios comunes a todos los métodos de inmunización activa (29).

Un buen programa de vacunación contra distemper debe buscar la máxima respuesta inmune en los perros vacunados. Esto conlleva una disminución hasta el mínimo de presentación de quejas asociadas con el uso de las vacunas contra distemper (6, 16, 26, 29).

Aunque el moquillo se manifiesta clínicamente como una infección respiratoria y el virus se localiza en el cerebro, el virus de distemper canino se reproduce primero en el tejido linfático. Inoculación intramuscular, subcutánea e intranasal de vacuna del virus de distemper canino inducirá inmunidad protectora (17, 23).

Hasta ahora las vacunas que han dado mayor resultado son las vacunas de virus vivo atenuado en embrión de pollo y en células de tejido canino (10, 12, 14, 15, 23).

Las vacunas compuestas de varios agentes virales se usan rutinariamente en Medicina Veterinaria. La pequeña dosis de vacunas de virus vivo modificado necesaria para estimular la inmunidad permite la combinación de varias vacunas en un solo producto sin que haya un incremento apreciable en el volumen inoculado (5, 23).

En adición a las pruebas de estabilidad, potencia y seguridad, las vacunas polivalentes se evalúan para ver si existe libertad de interferencia o sinergia entre los agentes individuales, de tal forma que su eficacia sea igual que si se administraran vacunas monovalentes (23).

Por regla general, hoy se vacuna simultáneamente contra el moquillo, la hepatitis infecciosa canina y la leptospirosis (4). Algunas incluyen además antígenos de parvovirus y parainfluenza (16, 23).

Si se emplean simultáneamente dos vacunas vivas, el virus de la hepatitis infecciosa canina, de mayor vitalidad, interfiere al de moquillo y puede disminuir el desarrollo de inmunidad contra esta última enfermedad (10).

En otro estudio reciente se demostró que las vacunas polivalentes suprimieron significativamente la cantidad absoluta de linfocitos (27). Los componentes de la vacuna individual de la vacuna polivalente, cuando son inyectados o inoculados solos, no suprimen significativamente la respuesta linfocitaria. Sin embargo, cuando el virus que causa la enfermedad es combinado con el adenovirus tipos 1 y 2 suprime significativamente la respuesta linfocitaria (6, 24). Aunque se han dado reportes de inoculación de vacunas polivalentes (moquillo, parvovirus, hepatitis, parainfluenza y leptospirosis) donde no existió ningún tipo de interferencia con la respuesta inmune a ninguno de los componentes de la vacuna (27).

Murray, en una evaluación de campo de vacunas, concluyó que una causa importante de las fallas vacunales reside en la falta de potencia de algunos lotes de vacunas y que es necesario tener vacunas monovalentes de moquillo (19).

Fallas vacunales en la inmunización de perros totalmente inmunocompetentes pueden deberse a que la vacuna no contenga virus suficientes o que los virus fueron sobreatenuados (6). De acuerdo con Povey las causas por las que pueden fallar las

vacunas de moquillo además de las anteriores serían que el estabilizador no sea el adecuado y el virus se inactive rápidamente (16).

Los requisitos mínimos de CFR (Code of Federal Regulations) y la SARH para productos biológicos utilizados en la inmunización de perros y gatos se refieren al control de calidad que deben practicarse a once diferentes inmunógenos, entre los que se incluyen los siguientes: 1) Vacuna contra el coronavirus, 2) Vacuna de sarampión para uso veterinario, 3) Adenovirus tipo 2, 4) y 5) Vacunas inactivadas y vacunas atenuadas para prevenir la infección por parvovirus canino, 6) Vacunas contra el moquillo, 7) Hepatitis canina, 8) Panleucopenia felina, 9) Rinotraqueítis viral felina, 10) Calcivirus felino, y 11) Bacterina contra la leptospirosis canina (4, 7, 32).

Las pruebas a las que debe someterse un número representativo de muestras de cada lote de los diferentes biológicos son las siguientes: Prueba de pureza, Pruebas de seguridad o inocuidad, Prueba de titulación y Pruebas de potencia (4, 7, 8, 32).

Con las pruebas de seguridad se pretende demostrar que el biológico en cuestión esté libre de propiedades que causen reacciones locales y sistémicas cuando el producto es usado de acuerdo con las indicaciones del laboratorio fabricante. Para ellos se recomienda aplicar el equivalente de hasta 10 dosis, por

las vías recomendadas por el fabricante, a dos perros o dos gatos según el tipo de inmunógeno. Estos animales se quedarán en observación durante 21 días. No deberá haber signos de enfermedad ni lesiones atribuibles al producto. En algunos productos, como es el caso de las vacunas contra la tos de los criaderos, la del moquillo, la hepatitis canina y las vacunas destinadas a los felinos, se recomienda emplear 16 ratones de los cuales 8 serán inoculados por vía intracerebral con 0.03ml, los otros 8 ratones recibirán 0.5ml de biológico administrado por vía intraperitoneal. Estos serán observados diariamente durante 21 días. Se recomienda dejar un lote de ratones testigos sin inocular. La prueba será satisfactoria siempre y cuando ninguno de los animales inoculados manifieste indicios de enfermedad (4, 7, 8, 32).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las preocupaciones del médico veterinario, dedicado a la clínica de pequeñas especies, es la efectividad y calidad de los biológicos que utiliza en su práctica diaria.

Los laboratorios productores buscan siempre, con su metodología de fabricación y sus técnicas de control de calidad, brindar al usuario, el médico veterinario, un producto que le confiera la seguridad que requiere y que éste tiene la obligación de respaldar ante el público consumidor. Sin embargo, en algunas ocasiones el médico veterinario se encuentra ante la penosa situación de enfrentarse a la reclamación eufórica de un cliente que no puede entender por más que se le explique por qué su perro contrajo la enfermedad, contra la que fue recientemente vacunado. En estas circunstancias la reputación del médico veterinario se pone en duda, son que se pueda hacer mucho para remediarlo.

La presente investigación pretendió determinar la confiabilidad de la cepa vacunal Lederle de distemper canino por medio de las pruebas de seguridad.

JUSTIFICACION

Debido a la falta de información sobre las pruebas de seguridad en biológicos elaborados en México una evaluación de dichas pruebas para la cepa vacunal Lederle de distemper, tanto en su forma monovalente, como polivalente (combinado con otras fracciones: hepatitis infecciosa canina y *Leptospira canicola* e *icterohemorrhagiae*) fue de utilidad para todo el gremio veterinario.

HIPOTESIS

La utilización del la cepa vacunal Lederle, tanto en su forma monovalente como polivalente, al ser aplicada por la vía y con la dosis recomendada por el laboratorio productor en cachorros de 8 a 14 semanas de edas, será segura e inocua.

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento y actualizar la información sobre las pruebas de seguridad en cachorros, utilizando la cepa vacunal Lederle en su forma monovalente y combinada con otros antígenos vacunales.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar que la cepa vacunal Lederle es segura en cachorros de 8 a 14 semanas de edad, al ser aplicada intramuscularmente (IM) con la dosis recomendada por el laboratorio productor.

- Evaluar mediante biometrías hemáticas, signos clínicos y temperatura revisados diariamente, la seguridad de la cepa vacunal Lederle sola y combinada con las fracciones de hepatitis infecciosa canina y leptospira canicola e icterohemorrhagiae.

- Comprobar mediante la prueba de seguridad en ratones que la cepa vacunal Lederle es segura e inocua.

MATERIAL Y METODOS

Para la prueba de seguridad en cachorros se utilizaron 14 cachorros de diferentes razas 8 a 14 semanas de edad de diferentes razas, dichos animales debieron estar clínicamente sanos y libres de anticuerpos específicos al virus de distemper canino, mediante las pruebas de seroneutralización en cultivos celulares (4, 8).

Fueron observados 7 días antes de las pruebas para determinar que estuvieran clínicamente sanos, y 21 días después del inicio de la prueba. Fueron inoculados con 10 dosis vía intramuscular en el caso de la vacuna comercial, y con 10ml en el caso de la semilla maestra* y semilla de trabajo⁺, de acuerdo a las indicaciones de CFR y SARH (4, 7, 8).

* - Un organismo de un nivel de pasaje específico que ha sido seleccionado y permanentemente almacenado por el productor, del cual se derivan todos los demás pasajes de semilla dentro de los niveles permitidos.

⁺ - Un organismo de un nivel de pasaje específico entre la Semilla Maestra y Semilla de Producción (la que se utiliza sin más propagación para iniciar la preparación de una fracción).

Los grupos fueron divididos e inoculados de la siguiente manera: los animales correspondientes a los grupos 1 y 2 fueron inoculados con 10ml del virus semilla maestra y virus semilla de trabajo respectivamente. Los grupos 3, 4, 5 y 6 fueron inoculados con 10 dosis de la vacuna rehidratada con el diluyente que corresponda, el grupo 3 fue inoculado con la vacuna de distemper liofilizada, el grupo 4 con la vacuna de distemper polivalente.

Se realizaron dos biometrías hemáticas previas a la prueba por cachorro. Se utilizaron jeringas estériles de 3ml y se obtuvo 1 a 2ml de sangre de cada cachorro, se vació la sangre a tubos de ensayo con anticoagulante EDTA y se identificaron. Se procedió a trabajar la muestra mediante la técnica correspondiente, descrita por Benjamin (2).

Se realizaron pruebas serológicas para la titulación de anticuerpos de distemper canino. Para esto se obtuvieron muestras de sangre con jeringas estériles de aproximadamente 2 a 3 ml. Se procedió a realizar la técnica correspondiente para la titulación de anticuerpos descrita anteriormente.

Los animales se dividieron en 7 grupos. Cada grupo constó de 2 cachorros que permanecieron en jaulas limpias. Fueron alimentados 3 veces al día con fórmula comercial y tuvieron agua a libre acceso. Los grupos se formaron de la siguiente manera:

- GRUPO 1 - Se inoculó con 10ml de la semilla maestra IM.
- GRUPO 2 - Se inoculó con 10ml de la semilla de trabajo IM.
- GRUPO 3 - Se inoculó con 10 dosis de la cepa vacunal de distemper leofilizada (vacuna comercial) IM.
- GRUPO 4 - Se inoculó con 10 dosis (10ml) con las fracciones moquillo-hepatitis infecciosa canina IM.
- GRUPO 5 - Se inoculó con 10 dosis (10ml) con las fracciones moquillo-leptospira canícola e icterohemorrhagiae IM.
- GRUPO 6 - Se inoculó con 10 dosis (10ml) con las fracciones moquillo-hepatitis infecciosa canina y leptospira canícola e icterohemorrhagiae.
- GRUPO 7 - Animales controles.

Se tomó la temperatura 7 días previos a la prueba y diariamente durante los 21 días de observación post-inoculación.

Durante los 21 días que duró la prueba se realizaron biometrías hemáticas cada tercer día, para evitar estresar al animal y provocar anemias yatrogénicas.

Para la prueba de seguridad en ratones se utilizaron 24 ratones albinos cepa CD1 de 11 a 14g que fueron divididos en 3 grupos de 8 ratones cada uno. Se observaron 7 días antes de la prueba para determinar que se encontraran sanos (4, 7).

El grupo 1 se inoculó con una jeringa de insulina 0.03ml de la vacuna reconstituida de distemper vía intracerebral.

El Grupo 2 se inoculó con una jeringa de insulina 0.5ml del biológico administrado por via intraperitoneal (7).

El Grupo 3 se utilizó como testigo. Fueron observados durante 21 días.

Se registraron los pesos de los ratones antes de iniciar la prueba y al término de la misma. No debieron existir signos de enfermedad durante el periodo de observación.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este trabajo demostraron que la cepa vacunal Lederle de distemper canino no ocasionó ningún tipo de problema post-vacunal con la aplicación intramuscular, ni signos de enfermedad en los cachorros de 8 a 14 semanas de edad a la dosis recomendada por el laboratorio productor, en su forma monovalente y polivalente.

En apoyo a esta prueba se realizaron biometrías hemáticas y monitoreo de temperaturas durante los 21 días de observación, obteniéndose valores promedios de dichos resultados.

En el cuadro #1 y gráfica #1 de la prueba de seguridad con la semilla maestra no se observó ningún cambio significativo en los valores promedios obtenidos.

En el cuadro #2 y gráfica #2 de la prueba de seguridad con la semilla de trabajo, también se puede observar que no hubo ningún cambio significativo en los valores promedios obtenidos (biometrías hemáticas y temperatura).

En el cuadro #3 y gráfica #3 de la prueba de seguridad con la fracción distemper, se observó una ligera linfocitosis, no habiendo cambios significativos en los valores promedios

obtenidos, considerando esta linfocitosis de tipo fisiológico, ya que los cachorros se mostraron clínicamente sanos.

En el cuadro #4 y gráfica #4 de la prueba de seguridad con la fracción distemper, hepatitis y leptospira, no se observaron cambios significativos en los valores promedios obtenidos (biometrías hemáticas y temperaturas).

En el cuadro #5 y gráfica #5 de la prueba de seguridad con la fracción distemper-hepatitis, no hubo cambios significativos en los valores promedios obtenidos.

En el cuadro #6 y gráfica #6 de la prueba de seguridad con la fracción distemper-leptospira, también se presentó una ligera linfocitosis, que se considerará de tipo fisiológico debido a que los cachorros se mostraron clínicamente sanos.

En el cuadro #7 y gráfica #7 se presenta el grupo control. Al igual que los anteriores se mostraron clínicamente sanos y no presentaron cambios significativos durante los días de observación.

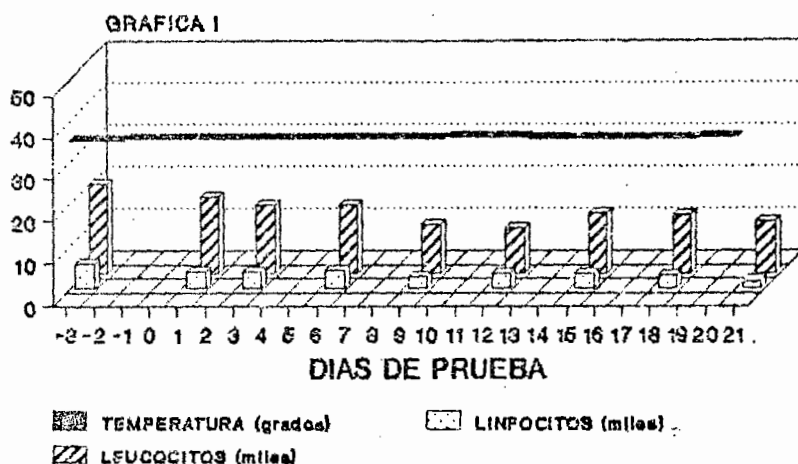
En el cuadro #8 de la prueba de seguridad en animales de laboratorio (ratones albinos) de 4 a 5 semanas de edad y con un peso promedio de 11 a 14 gr., se utilizaron 10 por grupo con un periodo de observación de 14 días. Ningún animal mostró signos de enfermedad.

Cuadro #1 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros con la Semilla Maestra

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometría									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.8	3.9	3.8	3.9	3.9	3.9	3.9	3.8	4.1
Hemoglobina (gms.%)	9.5	9.4	9.2	9.3	9.2	9.0	9.1	9.0	9.1
Hg. Erit. Med.	28.4	30.5	29.2	29.0	29.1	29.0	28.6	28.8	29.0
Hematocrito (%)	33	33	34	33	32	30	32	31	31
Vol. Erit. Med.	94.1	92.8	94.1	92.0	92.0	93.0	94.0	93.8	93.9
Leucocitos (n x 10 ³)	20.3	18.1	16.2	16.3	11.6	11.1	14.5	13.9	12.5
Linfocitos	25	22	25	25	22	30	24	21	14
Monocitos	2	1	2	2	3	3	2	1	0
Neutrófilos	71	76	71	71	73	67	72	75	85
Eosinófilos	1	1	1	1	1	0	2	2	1
Basófilos	1	0	1	1	1	0	0	1	0
Temperatura	38.7	38.8	38.6	38.9	38.9	39.0	38.8	38.8	39.0

GRUPO I (Valores Promedio)

Prueba de Seguridad *

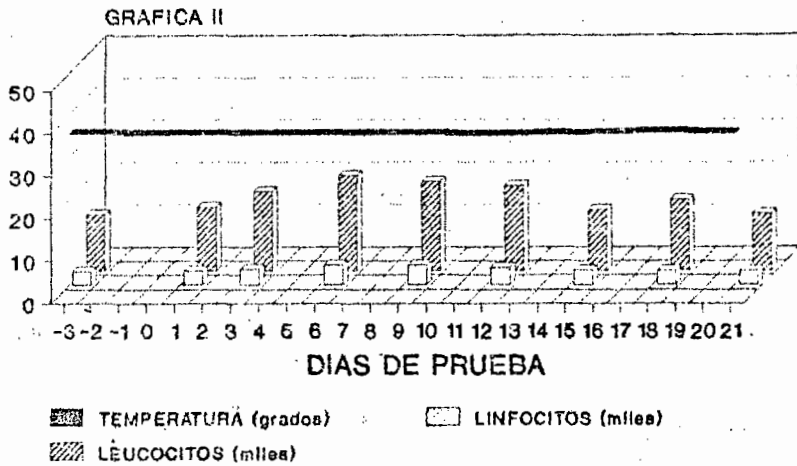


*SEMILLA MAESTRA

Cuadro #2 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros con la Semilla de Trabajo

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometría									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.9	3.7	3.9	3.9	4.0	3.8	3.8	3.9	3.7
Hemoglobina (gms.%)	9.2	9.1	9.0	9.8	10.5	9.8	9.3	9.2	9.2
Hg. Erit. Med.	30.0	29.5	29.3	27.5	29.3	29.3	29.7	30.5	31.5
Hematocrito (%)	29	32	31	34	33	32	32	32	33
Vcl. Erit. Med.	92.8	93.5	93.7	92.0	93.0	92.3	92.5	93.1	91.7
Leucocitos (n x 10 ³)	13.2	15.0	18.7	22.4	20.9	19.9	14.4	16.7	13.4
Linfocitos	24	22	20	21	22	20	24	20	24
Monocitos	2	2	2	3	1	3	1	2	2
Neutrófilos	73	75	76	76	76	74	73	77	73
Eosinófilos	1	1	1	0	1	2	1	1	1
Basófilos	0	0	1	0	0	1	1	0	0
Temperatura	38.9	38.8	38.8	38.7	38.8	38.6	38.7	39.1	39.0

GRUPO II (Valores Promedio) Prueba de Seguridad *

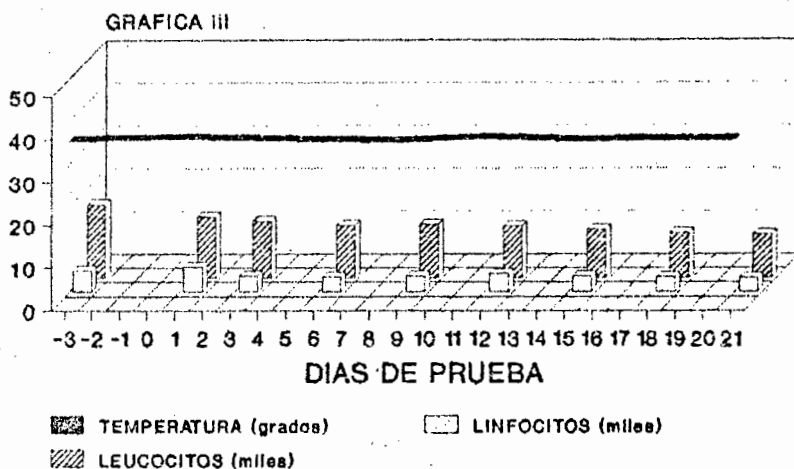


•SEMILLA TRABAJO

Cuadro #3 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros con la Fracción Distemper

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometría									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.2	3.1	3.5	3.3	3.6	3.6	3.7	3.7	3.6
Hemoglobina (gms.%)	9.3	9.3	9.1	9.3	9.5	9.5	10.0	9.8	10.1
Hg. Erit. Med.	29.0	28.5	29.3	30.1	27.9	29.0	27.7	28.5	28.0
Hematocrito (%)	30	30	29	30	32	34	34	34	34
Vol. Erit. Med.	93.7	93.8	93.5	93.4	94.1	94.1	94.4	93.9	94.4
Leucocitos (n x 10 ³)	17.2	14.3	13.3	12.3	12.5	12.1	11.4	10.6	10.2
Linfocitos	29	40	28	28	29	35	33	33	32
Monocitos	2	2	4	3	2	3	2	3	3
Neutrófilos	69	56	64	66	65	59	61	61	61
Eosinófilos	0	1	3	2	2	2	2	2	3
Basófilos	0	1	1	1	2	1	2	1	1
Temperatura	38.7	39.1	38.9	38.6	38.4	39.1	38.5	38.8	38.7

GRUPO III (Valores Promedio) Prueba de Seguridad *

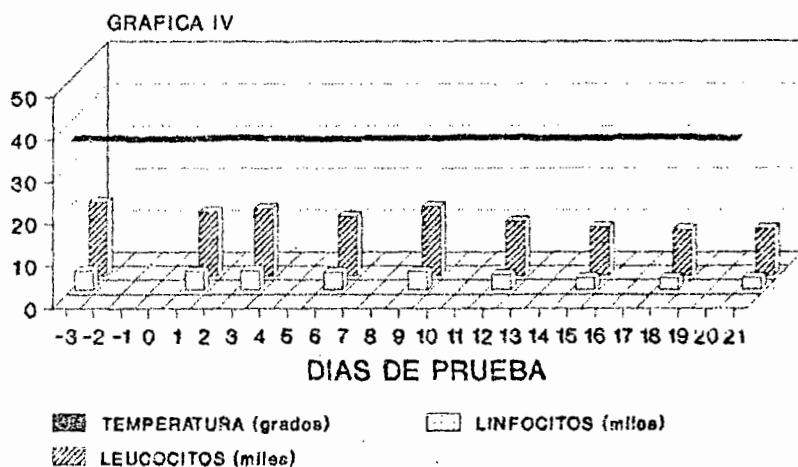


*FRACCION DISTEMPER

Cuadro #4 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros
con la Mezcla Distemper-Hepatitis-Leptospira

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometria									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.6	3.9	3.5	3.4	3.5	3.5	3.2	3.6	3.7
Hemoglobina (gms.%)	8.4	8.4	9.0	9.2	9.3	9.4	9.3	9.1	11.2
Hg. Erit. Med.	27.1	27.0	28.0	29.1	28.9	29.0	30.0	32.3	28.7
Hematocrito (%)	27	30	31	33	32	33	31	34	34
Vol. Erit. Med.	93.3	93.9	93.3	93.4	94.1	91.2	93.2	95.1	92.5
Leucocitos (n x 10 ³)	17.5	15.2	15.9	14.1	16.3	12.9	11.5	11.0	11.2
Linfocitos	25	28	28	29	26	27	24	24	25
Monocitos	3	7	3	4	3	1	2	1	3
Neutrófilos	70	62	66	64	68	70	71	72	69
Eosinófilos	1	2	0	2	2	1	2	2	2
Basófilos	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Temperatura	38.8	38.5	38.9	38.5	38.8	38.9	38.8	39.0	38.8

GRUPO IV (Valores Promedio) Prueba de Seguridad *



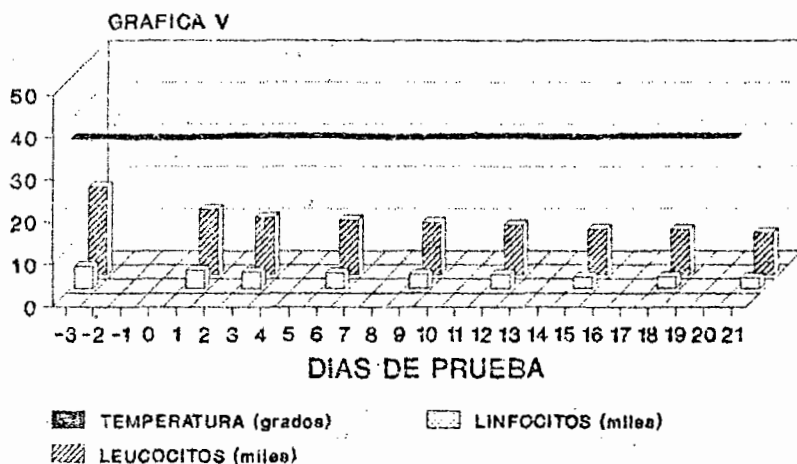
-DISTEMPER-HEPATITIS-LEPTOSPIRA

Cuadro #5 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros
con la Mezcla Distemper-Hepatitis

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometría									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.7	3.6	3.1	3.1	3.5	3.4	3.6	3.9	3.7
Hemoglobina (gms.%)	9.3	10.3	8.9	9.0	9.0	9.4	9.5	9.5	9.7
Hg. Erit. Med.	27.9	28.6	28.7	29.0	29.0	28.7	28.3	28.0	28.1
Hematocrito (%)	30	34	29	30	30	32	34	34	34
Vol. Erit. Med.	93.7	94.4	93.5	93.7	94.1	94.1	94.4	94.3	94.5
Leucocitos (n x 10 ³)	20.8	15.3	13.5	12.9	12.3	11.8	10.7	10.5	9.9
Linfocitos	25	28	28	28	27	28	25	26	26
Monocitos	2	6	3	4	4	3	5	3	2
Neutrófilos	72	65	67	65	69	66	67	68	69
Eosinófilos	1	1	1	2	0	2	2	2	2
Basófilos	0	0	1	1	0	1	1	1	1
Temperatura	38.8	38.5	39.0	38.9	38.6	39.0	38.7	38.9	39.0

GRUPO V (Valores Promedio)

Prueba de Seguridad *



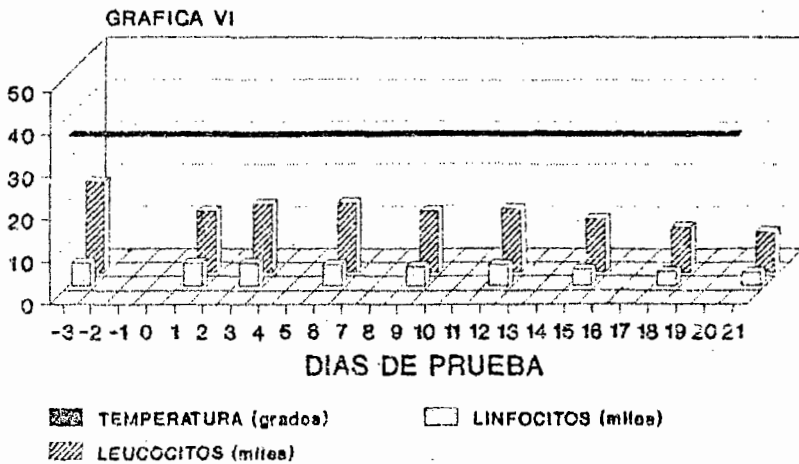
-DISTEMPER-HEPATITIS

Cuadro #6 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros
con la Mezcla Distemper-Leptospira

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometría									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.3	3.9	3.2	3.2	3.5	3.8	3.5	3.6	3.6
Hemoglobina (gms.%)	8.8	9.0	9.3	8.3	9.2	9.1	9.3	9.4	9.3
Hg. Erit. Med.	28.4	28.5	30.0	29.2	29.3	29.2	29.1	28.9	28.5
Hematocrito (%)	27	29	29	28	32	33	32	32	31
Vol. Erit. Med.	93.5	93.9	93.7	93.9	94.0	94.1	93.9	94.1	93.8
Leucocitos (n x 10 ³)	21.4	14.4	16.2	16.4	14.5	14.9	12.3	10.8	9.5
Linfocitos	25	37	33	31	32	34	31	33	32
Monocitos	3	4	2	2	4	3	3	3	3
Neutrófilos	72	58	64	65	61	60	63	62	62
Eosinófilos	0	1	1	1	2	2	1	1	2
Basófilos	0	0	0	1	1	1	2	1	1
Temperatura	38.7	38.8	38.7	38.7	38.8	38.7	38.9	39.0	38.9

GRUPO VI (Valores Promedio)

Prueba de Seguridad *



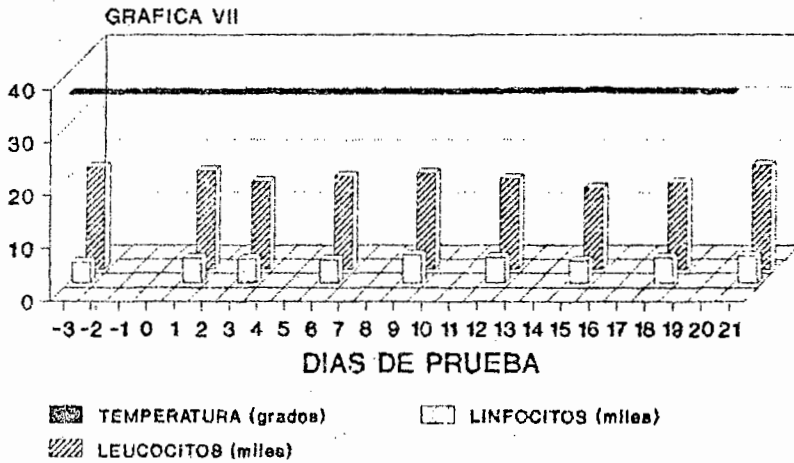
-DISTEMPER-LEPTOSPIRA

Cuadro #7 Prueba de Seguridad
Valores promedios obtenidos en perros con el Grupo Control

Días									
	- 3	1	3	6	9	12	15	18	21
Biometría									
Eritrocitos (n x 10 ⁶)	3.5	3.6	3.2	3.3	3.2	3.8	3.6	3.4	3.6
Hemoglobina (gms.%)	9.4	9.9	9.3	9.4	9.4	9.4	9.2	9.1	9.5
Hg. Erit. Med.	28.2	28.4	29.0	29.1	29.0	30.0	32.0	35.3	35.1
Hematocrito (%)	32	34	30	33	33	32	33	35	33
Vol. Erit. Med.	93.0	94.3	93.7	93.9	94.1	94.3	93.5	93.1	94.2
Leucocitos (n x 10 ³)	19.7	18.6	16.4	17.5	18.1	17.1	15.2	16.3	19.7
Linfocitos	20	25	27	25	29	28	27	29	26
Monocitos	2	3	3	3	1	1	1	2	2
Neutrófilos	75	72	69	70	67	68	70	66	70
Eosinófilos	2	0	1	2	2	2	1	2	1
Basófilos	1	0	0	0	1	1	0	1	1
Temperatura	38.5	38.5	38.6	38.6	38.5	38.6	38.8	38.7	38.6

GRUPO VII (Valores Promedio)

Prueba de Seguridad *



•GRUPO CONTROL

Cuadro #8
Prueba de Seguridad en
Animales de Laboratorio*

Grupos	Vía de Aplicación	
	Intraperitoneal	Intracerebral
I - Semilla Maestra	satisface	satisface
II - Semilla de Trabajo	satisface	satisface
III - Fracción Distemper	satisface	satisface
IV - Mezcla Distemper-Hepatitis-Leptospira	satisface	satisface
V - Mezcla Distemper-Hepatitis	satisface	satisface
VI - Mezcla Distemper-Leptospira	satisface	satisface
VII - Grupo Control	satisface	satisface

* Ratones de 4-5 semanas de edad, de 11-14g (10 por grupo).
Periodo de Observación - 14 días.

Satisface = Ningún animal mostró signos de enfermedad.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran la seguridad de la cepa vacunal Lederle, debido a que ninguno de los grupos mostraron signos ni lesiones atribuibles a la vacunación de distemper, de las pruebas de seguridad ya realizadas y las combinaciones mencionadas en cada una de ellas, lo cual coincide ampliamente con la hipótesis planteada al inicio de este trabajo.

En relación con los signos monitoriados (temperatura) a cada cachorro y las biometrías hemáticas realizadas en las cuales no se encuentra diferencia significativa ya que todos los parámetros tomados coinciden con los señalados por otro autor (32).

Es necesario mencionar que en los grupos 3 y 6 analizados dentro de este trabajo se observó ligera linfocitosis, la cual debe considerarse de tipo fisiológico, por lo cual los cachorros se mostraron clínicamente sanos durante las pruebas realizadas.

Esto se contrapone a lo anteriormente descrito por los veterinarios que informaban sobre el incremento de casos de moquillo, presentándose en perros que habían sido inmunizados, incluso repetidas veces, dando la impresión de que ninguna vacuna comercial serviría para proteger a los animales (22).

Otro grupo de fracasos aparentes de las vacunas guarda relación con ciertas circunstancias en las cuales queda reprimida la respuesta inmune, por ejemplo, no se debe vacunar a los animales

intensamente parasitados o desnutridos, en cualquier situación de estrés en general, incluyendo la preñez, el frío o calor extremo y la fatiga, los cuales podrán inhibir la respuesta inmune normal (1,3,6,29,30).

De esta forma debe tomarse en cuenta los factores antes mencionados antes de aplicar una vacuna.

Debido a la falta de información sobre las pruebas de seguridad en biológicos elaborados en México, se considera que fue de mucha utilidad evaluar dichas pruebas para la cepa vacunal Lederle de distemper. De esta forma se contribuye al conocimiento y actualización sobre las pruebas de seguridad en biológicos elaborados en nuestro país.

CONCLUSIONES

- 1) La cepa vacunal Lederle de distemper canino no generó dicha enfermedad en cachorros de 8 a 14 semanas de edad cuando se aplicó en su forma monovalente y polivalente.
- 2) Se observó por medio de las biometrías hemáticas y signos clínicos, revisados diariamente, que no hubo manifestación de ningún problema post-vacunal.
- 3) Se comprobó también mediante las pruebas de seguridad realizadas en ratones la inocuidad de la cepa vacunal Lederle de distemper.

BIBLIOGRAFIA

1. AVMA Council on Biologic and Therapeutic Agents: Canine and Feline Immunization Guidelines. Council Report., 195: 314-316 (1989).
2. Benjamin, Maxime M.: Manual de Patología en Veterinaria. Ed. Limusa. México, D.F. (1974).
3. Blecha, F.: Stress et immunité chez L'animal. Rec. Med. Vet., 164: 767-72 (1988).
4. British Pharmacopeia: Canine Distemper Vaccine, Living. Veterinary Bulletin, 59: 164-65 (1989).
5. Carmicheal, L. E.; Olin, I. M.: Immunization strategies in puppies - why failures? Comped. Cortin Ed. Pract. Vet., 5(12): 1043-1051.
6. Carmichael, L. E.: Seminario sobre enfermedades infecciosas de los perros. Enfermedades respiratorias. Memorias Cuarta Jornada Médica. Departamento de Medicina, Veterinaria y Zootecnia para Pequeñas Especies U.N.A.M.: 6-18.
7. Code of Federal Regulations. Animals and Products. Animal and Plant Health Inspection Service., USDA: 383-441 (1986).
8. Flores Castro, Ricardo: Requisitos mínimos de los productos para caninos y felinos. Actualización de Normas de Control de Calidad para Productos Biológicos Veterinarios, UNAM - SIRSA CANIFARMA SARH, México, D.F. (1988).
9. Greene, C.E.: Immunoprophylaxis and Immunotherapy, Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1984.
10. Horst, J.C.: Clínica de las Enfermedades del Perro. 1ª ed. Editorial Acribia, México, D.F., 1977.
11. Issacson, P., Ston, A.: Allergic reactions associated with viral vaccines. Prog. Med. Virol., 13: 239-270 (1971).
12. Kirk, R. W.: Terapéutica Veterinaria, Práctica Clínica en Pequeñas Especies. 7ª ed. CECSA, 1984.
13. Lewis, D. C., Dhein, C. R., Everman, J. F. Current Concepts in Vaccination Programs for Dogs, Cats and Ferrets. Companion Animal Practice, 2: 3-8, (1988).

14. Merchant, L. A., Packer, R. A.: Bacteriología y Virología Veterinaria. 2ª ed. Editorial Acribia, México, D.F., 1985.
15. Mohanty, S., Dutta, S.: Virología Veterinaria. 1ª ed. Nueva Editorial Interamericana, México, D.F., 1983.
16. Morilla, A.: Conceptos sobre la Inmunización contra el Moquillo. Memoria Foro sobre Enfermedad de Carré. Unidad de Congreso del Centro Médico Nacional. México, D.F., 1987, 13-21.
17. Ogra, P. L., Fishaut, M., Gallagher, M. R.: Viral Vaccination via the mucosal routes. Rev. Infect. Dis., 2: 352-369 (1980).
18. Osterhaus, A.: A Morbillivirus causing Mass Mortality in Seals. Vaccine, 7(6): 483-484 (1989).
19. Osterhaus, A.; Groen, J. and Col.: Canine Distemper Virus in Seals. Nature, UK, 6184: 403-404 (1988).
20. Otto, S.H.: El Manual Merck de Medicina Veterinaria. Ed. Merck y Co., Inc. (1981).
21. Padilla Sánchez, Jorge: La Red Fría en Productos Biológicos para Pequeñas Especies. Avirama, 7: 33-34 (1988).
22. Padilla, Jorge: Signología Clínica de la Enfermedad de Carré. Memoria Foro sobre Enfermedad de Carré. Unidad de Congreso del Centro Médico Nacional, junio 27, 1987, 6-8.
23. Pearson, R. C., Dhein, C. R., Gorham, J. R.: Vaccines and principales of immunization. Viral Diseases, 16: 1205-1025 (1986).
24. Phillips, T. R., Jenson, J. L., Rubino, M. J.: Effects of Vaccines on the Canine Immune System. Canadian Journal of Veterinary Research, 53: 154-60 (1989).
25. Reyes Castañeda, Pedro: Bioestadística Aplicada. Ed. Trillas. México, D.F. (1983).
26. Rude, T. A.: Programas de Vacunación contra el Distemper Canino. Memoria Foro sobre Enfermedad de Carré. Unidad de Congreso del Centro Médico Nacional, junio 27, 1987, 1-5.
27. Sprino, J. P., Harris, L. L.: Serologic Interference Study of a Canine Parvovirus, Distemper, Hepatitis, Parainfluenza, L. canicola Icterohaemorrhagiae Vaccine. Veterinary Medicine - Small Animal Clinician, 79: 337-39 (1983).

28. Ted, R.: Quejas sobre la Vacuna contra Distemper Canino. Memoria Foro sobre Enfermedad de Carré. Unidad de Congreso del Centro Médico Nacional, junio 27, 1987, 1-5.
29. Tizzard, I.: Inmunología Veterinaria. 2ª ed. Nueva Editorial Interamericana, México, D.F., 1985.
30. Turnwald, G. H., Barta, O., Taylor, H. W., Kreeger, J., Coleman, S. U., and Pourcian, S. S.: Cryptosporidiosis associated with Immunosuppression attributable to distemper in a pup. J. Am. Vet. Med. Ass., 192: 79-81 (1988).
31. Walton, G. S.: Skin Responses in the Dog and Cat to Ingested Allergens. Vet. Rec., 81: 709-713 (1967).
32. Williams, J. M.: Control de Calidad de las Vacunas Virus Vivo de Distemper Canino (DC). Memoria Foro sobre Enfermedad de Carré. 28-33, Unidad de Congreso del Centro Médico Nacional. México, D.F., 1987.