

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



CONTAMINACION DE VACUNAS ANTIRRABICAS
COMERCIALES

TESIS PROFESIONAL

Que para Obtener el Título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JOSE MANUEL OROPEZA SANDOVAL

GUADALAJARA, JALISCO, 1977

T E S I S P R O F E S I O N A L
"CONTAMINACION DE VACUNAS ANTIRRABICAS COMERCIALES"

JOSE MANUEL OROPEZA SANDOVAL.

I N T R O D U C C I O N



OFICINA DE
DIFUSION CIENTIFICA

I N T R O D U C C I O N

La Medicina Preventiva, es una Ciencia que tiene por objeto impedir que los animales enfermen, por medio de programas, de Vacunación. Manejo, Sanidad, y otras medidas Zootécnicas(12)(13). Asi mismo evitar las Zoonosis(7). Es indudable - que una de las Zoonosis de importancia capital, para la Salud Pública es la Rabia.

En nuestra época se ha convertido en un gran problema para la Salud Pública, el número tan grande de población canina (10 % en relación con la población Humana(17).), y siendo este animal uno de los principales reservorios de la Rabia(5), enfermedad que afecta a todos los mamíferos(4)(16), uno de -- los que corre mas peligro es el Hombre, por el hecho, de que sus relaciones con él son más estrechas(5)(8), la frecuencia en el Hombre no es muy grande, si se compara con el número de Habitantes, pero se le ha dado mucha importancia, debido que es invariablemente mortal(4).

Los productos biológicos, destinados a proteger a los canidos contra esta enfermedad, y elaborados por los laboratorios especializados, se han visto posiblemente obligados a modificar un auténtico control de calidad(6)(14), substituyéndolo por metodología que consiste entre otras cosas en la adición de antibióticos, anticontaminantes y otros conservadores en el producto terminado(6), insuficiente muchas veces para eliminar completamente, los microorganismos presentes.

Pocos han sido los trabajos desarrollados para determinar la presencia, frecuencia e identificación de gérmenes ---

contaminantes de los biológicos, para uso en canideos y mucho menos demostrativo, de que si la adición de antibióticos es efectiva, para el control de los gérmenes, y de que manera puede afectar la Vacuna dicha adición, por lo tanto los laboratorios concedores del problema y su importancia, deben de de--mostrar su interés activo a fin de establecer normas de con--trol de calidad(3)(6)(7)(15)(18).

Para que así la contaminación no gane, en la fase de elaboración matando al embrión(15), o atenuando el Virus que será utilizado, para la producción de la Vacuna(11), y no sea éste un vehículo de alguna enfermedad(7). Teniendo además en cuenta que dicha Vacuna, puede ser deficiente en unidades virales, suficientes para producir la inmunidad requerida(11).

Los laboratorios productores de Vacunas, deben de reconocer la importancia de una atención constante, al problema de los contaminantes que puedan presentarse en estos productos, durante algunas de las etapas de su producción(3)(13)(18).

Dentro de algunas especificaciones Federales de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, para la producción de Vacunas, se obliga: Que todas las Vacunas, sea cual fuere su tipo deberán cumplir las siguientes condiciones: Han de ser Estériles, Inócuas y Efectivas Inmunológicamente(13)(15). Una Vacuna se nombra que es estéril cuando no contiene gérmenes extraños, solo sustancias y medios conservadores permitidos(3)(14)

El departamento de Agricultura de Estados Unidos de Norte América exige ahora, que muestras de todos los lotes de Vacunas en el mercado(7)(5), sean colectadas y probadas 5 meses después de la prueba original de potencia(11)(14).

Algunos investigadores han recalcado la importancia y ne

cesidad de añadir testigos estandard, los cuales tendrían como principal fin, la comprobación de Vacunas bacteriológicamente estériles, aunque éstas pueden contaminarse en cuanto se abran para ser utilizadas(13).

Si bien en Medicina veterinaria las Vacunas deben reunir las características antes mencionadas, ya dichos gérmenes pueden acortar la duración del producto, por la destrucción de las substancias activas, u ocasionando posiblemente, en los vacunados molestias o reacciones, locales o generales(13)(15).

El presente trabajo, es comprobar la presencia o ausencia de contaminantes, en Vacunas Antirrábicas comerciales, obtenidas directamente de Farmacias Veterinarias y de diferentes laboratorios, productores de Vacunas para canideos.

M A T E R I A L

Y

M E T O D O S

M A T E R I A L

CRISTALERIA:

- Cajas de Petri
- Cubre objetos
- Matraz de Erlenmeyer (300 ml.)
- Porta objetos
- Probetas (100 ml.)
- Tubos de ensayo (10 y 20 ml.)
- Vasos de Coplin

MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar Gelosa Sangre
- Agar Mac Conkey
- Agar Gelosa Sangre con Azida Sodio
- Agar Verde Brillante
- Caldo Nutritivo
- Caldo Selenite
- Saboraud

SELECTIVOS:

- Sim
- Citrato de Simons
- T.S.I.(triple azúcar hierro)
- Urea

CARBOHIDRATOS PARA PRUEBAS BIOQUIMICAS:

- Arabinosa
- Inositol
- Lactosa
- Manitol
- Raffinosa

- Rhamnosa
- Salisin
- Sorbitol
- Sucrosa

OTROS MATERIALES:

- Agujas(20 larga)
- Algodón
- Asas de Platino(recta y curva)
- Autoclave
- Balanza(capacidad 2610 gr.)
- Charolas
- Espátula
- Estufa bacteriológica
- Gasa
- Gradillas
- Jeringas hipodérmicas estériles(2.5 ML)
- Lápiz graso
- Lupa
- Maskin tape
- Mechero Bunsen
- Microscopio(estandard de Laboratorio)
- E.D.T.A.(anticoagulante)
- Porta cajas de Petri
- Refrigerador
- Sangre de Equino(esteril)
- Yodo al 2 %

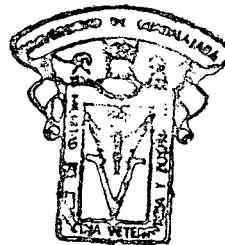
TINCIONES:

- Tinción de Gram

REACTIVOS:

Azida Sodio (1-2000)

Peróxido de Hidrogeno

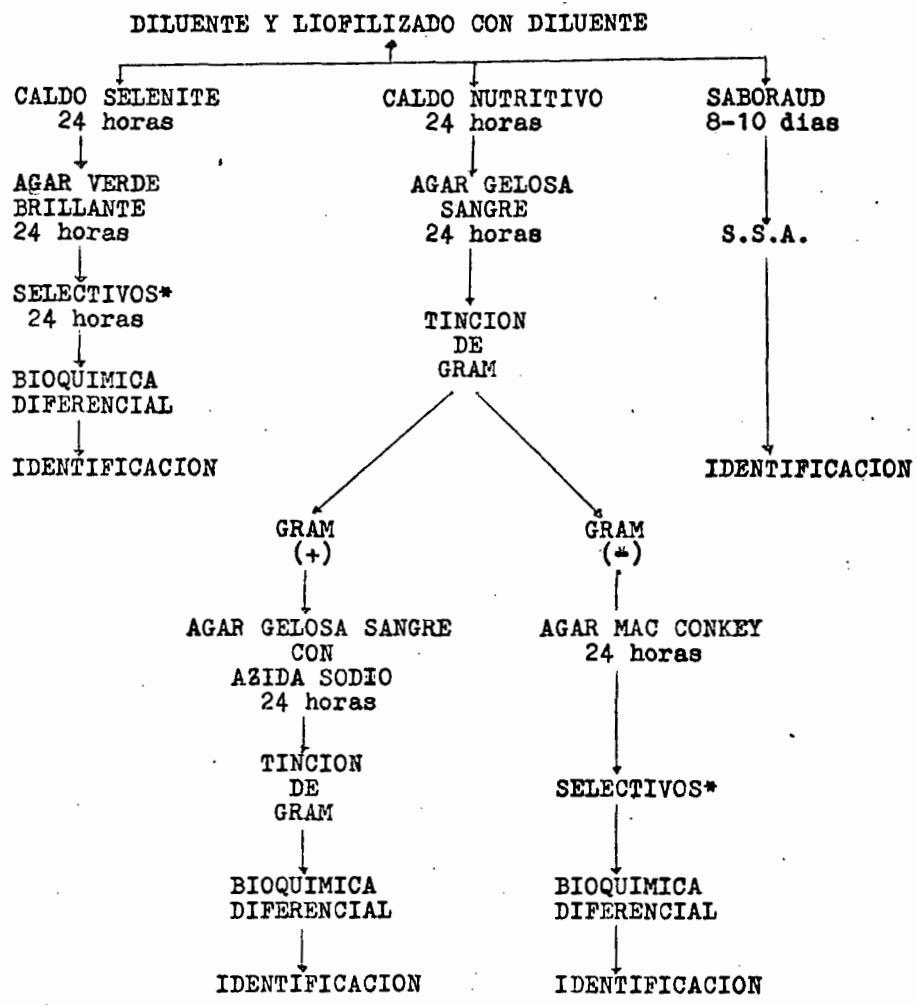


OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

20 Vacunas (de 10 diferentes laboratorios)

Vacunas	Características
1-	Virus vivo, Cepa Flury, Embrion de pollo, HEP.
2-	Virus vivo, Cepa I.B.
3-	Virus vivo, Cepa Flury, Embrion de pollo, HEP.
4-	Virus vivo, Cepa Roxane, En riñon de cerdo.
5-	Virus vivo, en tejido de canino, LEP.
6-	Virus vivo, Cepa Flury, Embrion de pollo, HEP.
7-	Virus vivo, Cepa Flury, Embrion de pollo, HEP.
8-	Virus inactivado, Cepa C.V.S. Cerebro de Raton lactante.
9-	Virus inactivado, Fenolizada, Cerebro de Raton - lactante.
10-	Virus vivo, Cepa Flury, Embrion de pollo, HEP.

ESQUEMA DE LA METODOLOGIA GENERAL EN EL LAB. DE BACTERIOLOGIA



(*)= Sim, Citrato de Simons, T.S.I., Urea.

M E T O D O L O G I A

Se adquirieron 20 Vacunas de 10 diferentes laboratorios comerciales, y se colocaron en refrigeración hasta usarse.

Se procedió a preparar el material de laboratorio, necesario para los diferentes medios de cultivo que se utilizarán.

En el autoclave se esterilizaron a 15 libras de presión por 15 minutos, tubos de ensayo con tapón de algodón, cajas de Petri y matraces de Erlenmeyer, conteniendo medios de cultivo rehidratados, en las cantidades necesarias y debidamente tapados con algodón, gasa, además de un cobertor de papel de envoltura(1)(2)(9)(10).

Sangre de Equino que se tomó en forma estéril y de un animal que no se había tratado con antibióticos recientemente, se uso E.D.T.A. como anticoagulante(10).

Se procedió a vaciar en tubos de ensayo y en las cajas de Petri el medio correspondiente. Se comprobó la esterilidad de los medios, dejándolos 24 horas en la estufa bacteriológica(10).

Se tomaron las Vacunas y se desinfectaron con algodón -- conteniendo Yodo al 2 %, y se dejará que seque, se destaparon entre 2 mecheros Bunsen, con una jeringa hipodérmica estéril. se tomó el diluyente*, y se inoculó en : Caldo Nutritivo, Caldo Selenite y Saboraud(1)(2), con otra jeringa hipodérmica es t^éril, se homogenizó el diluyente con el liofilizado, se tomó una muestra e inoculó en : Caldo Nutritivo, Caldo Selenite y Saboraud, el Caldo Nutritivo y el Caldo Selenite se colocaron en incubación por 24 horas, en la estufa bacteriológica a 37-

(*)= Hay Vacunas que vienen diluidas

.5°C., el Saboraud se dejó de 8 a 10 días a medio ambiente y en caso de crecimiento positivo a hongos se envió a la S.S.A. para su tipificación(1)(2)(10).

Pasadas las 24 horas de incubación, del Caldo Nutritivo se resembró con una asa de Platino punta curva, flameada en el mechero Bunsen, en Gelosa Sangre, y del Caldo Selenite en igual forma se resembró, en Agar Verde Brillante, procediendo a colocarlos en la estufa bacteriológica a 37.5°C., por 24 horas(1)(2).

Pasado dicho período de incubación, observamos las características, de las colonias bacterianas en Agar Gelosa Sangre y se hizo la tinción de Gram: Aquellos gérmenes que resultaron ser Gram positivos, se resembraron en, Agar Gelosa Sangre con Azida Sodio(1-2000), y los gérmenes Gram negativos se resembraron en Agar Mac Conkey, todo esto siguiendo los pasos adecuados y medidas de seguridad enunciadas anteriormente. Se incubaron 24 horas en la estufa bacteriológica a 37.5°C.,(1)-(2).

De el Agar Verde Brillante, pasadas 24 horas de incubación se anotaron las características de las colonias, se inoculó con asa de Platino punta recta, y frente al mechero Bunsen, en los medios Selectivos(Sim, Citrato de Simons, T.S.I. Urea), los cuales colocaremos en la estufa bacteriológica, para su incubación por 24 horas a 37.5°C.(1)(2).

Del Agar Gelosa Sangre con Azida Sodio, a las 24 horas de incubación, se hizo una tinción de Gram, y se procedió a efectuar Bioquímica diferencial e identificación del germen.

Del Agar Mac Conkey, a las 24 horas de incubación se resembró, en medios Selectivos (Sim, Citrato de Simons, T.S.I.

Urea), y se colocó en incubación por 24 horas, a 37.5°C.(1)(2)

De los medios Selectivos inoculados, del crecimiento bacteriano en Agar Verde Brillante, después de 24 horas de incubación, se efectuó la lectura y además se hizo Bioquímica diferencial, para identificación final. Y por igual forma los medios Selectivos inoculados de Agar Mac Conkey(1)(2).

Para las Bioquímicas diferenciales se utilizarón, aquellos Carbohidratos necesarios, para el germen de que se sospeche(2).

Todo el germen aislado se reportará, por Vacuna o diluyente, porcentaje de contaminación total, por laboratorio y por germen aislado.

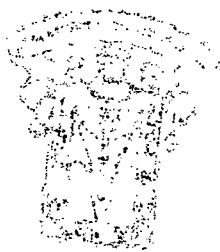
R E S U L T A D O S

R E S U L T A D O S

LABORATORIO

AISLAMIENTO BACTERIANO

1-	(+)	<i>Pseudomona</i> spp. Hongos Mucor
1-*	(+)	Hongos Mucor
3-A	(+)	Hongos Mucor
1-A*	(+)	Hongos Mucor
2-	(-)	
2-*	(--)	
2-A	(-)	
2-A*	(-)	
3-	(-)	
3-*	(-)	
3-A	(+)	Hongos <i>Penicillium</i>
3-A*	(+)	Hongos <i>Penicillium</i>
4-	(-)	
4-*	(-)	
4-A	(-)	
4-A*	(-)	
5-	(-)	
5-*	(-)	
5-A	(-)	
5-A*	(-)	
6-	(+)	<i>Pseudomona</i> spp.



THE UNIVERSITY
OF MICHIGAN LIBRARY

6-*	(-)
6-A	(*)
6-A*	(-)
7-	(-)
7-A	(+) Pseudomona spp.
8-	(-)
8-*	(-)
8-A	(-)
8-A*	(-)
9-	(-)
9-A	(-)
10-	(-)
10-*	(-)
10-A	(+) Shigella spp
10-A*	(-)

(*) Diluyente de la Vacuna.



OFICINA DE
ESTUDIOS CIENTÍFICOS

" PORCENTAJE DE AISLAMIENTO BACTERIANO "

PORCENTAJE DE AISLAMIENTO TOTAL:

28.0 %

PORCENTAJE POR LABORATORIO:

1-	50.0 %
3-	20.0 %
6-	10.0 %
7-	10.0 %
10-	10.0 %
	<hr/>
	100.0 %

PORCENTAJE POR AISLAMIENTO:

Pseudomona ssp. . .	30.0 %
Hongos Mucor. . . .	40.0 %
Hongos Penicillium.	20.0 %
Shigella ssp. . . .	10.0 %
	<hr/>
	100.0 %

PORCENTAJE DEL DILUENTE Y LIOFILIZADO CON DILUENTE:

Diluyente . . 30.0 %

Liofilizado. 70.0 %

D I S C U S I O N

D I S C U S I O N

Este trabajo se efectuó con 20 Vacunas Antirrábicas, de 10 diferentes laboratorios.

CASOS 1, 7-A :

En el medio de Agar Verde Brillante, las colonias eran grandes, redondas, de bordes regulares, convexas, mucoides, y un poco grisáceas. Hubo viraje en el medio a un color rojo; - por estas características se sospechó de PSEUDOMONA spp. y para su confirmación, se resembró en medios Selectivos: Sim, Citrato de Simons, Urea Agar, TSI, con los resultados siguientes: El TSI (reacción alcalina, no producción de gas ni ácido) el Citrato de Simons(-); Sim (motilidad + Indol -); Urea Agar(-); Tinción de Gram(-).

En el caso 6 creció primero en Gelosa Sangre, produciendo una hemólisis beta, y un pigmento verdoso, se resembró en Verde Brillante, y de este medio a Selectivos, con el resultado igual al anterior (Pseudomona spp).

CASOS 10-A :

En el medio de Agar Mac Conkey, las colonias eran rugosas, secas, irregulares, mucoides, elevadas, hemisféricas y opacas. El crecimiento abundante, color rojo; por estas características se sospechó de SHIGELLA spp. y para su confirmación, se resembró en medios Selectivos: Sim, Citrato de Simons, Urea Agar, TSI, con resultados siguientes: TSI (superficie alcalina, fondo amarillo, no hay H₂S y no gas); Sim (Indol variable motilidad -); Simons (-); Urea Agar (-); Tinción de Gram (-).

Y para corroborarlo, se hizo Bioquímica diferencial con los siguientes resultados:

Arabinosa (-)	Inositol (-)
Lactosa (-)	Manitol (-)
Salisin (-)	Rhamnosa (-)
Sucrosa (-)	Sorbitol (-)

CASOS 1, 1-*, 1-A, 1-A* :

En el medio de Saboraud, hubo crecimiento en forma de esporangios, globulosos, ramificados de color negro; se llevo a tipificar a la S. S. A., dándonos como resultado Hongos MUCOR.

CASOS 3-A, 3-A* :

En el medio de Saboraud, hubo crecimiento de filamentos verdosos; se llevo a tipificar a la S. S. A., dándonos como resultado, Hongos PENICILLIUM.

Como puede observarse, a través de los resultados obtenidos, en el presente trabajo, nos refleja que si existe una --contaminación de gérmenes, en las Vacunas Antirrábicas comerciales, para uso en perros.

Por lo tanto los laboratorios productores de Vacunas, --tendrán que ser cuidadosos, en su control de calidad en biológicos, ya que la contaminación, puede efectuarse en la siembra, liofilizado, envasado, etc., y como ejemplo; tenemos los diluentes que salieron contaminados (la Penicilina que se adiciona a la Vacuna, es sintética).

Nos damos cuenta que la adición de antibióticos, inhibidores, anticontaminantes y otros conservadores, no protegen a la Vacuna de la contaminación(7).

17

Este trabajo nos refleja, que si existe una contaminación de gérmenes en las vacunas, dejando abierto el campo para futuras investigaciones, la reproducción de la enfermedad de los gérmenes aislados, así como su virulencia y en su defecto el ataque de estos para minar, el poder inmunogénico de las células virales, utilizadas en la elaboración de las Vacunas.

C O N C L U S I O N E S

C O N C L U S I O N E S

Del total de muestras trabajadas, nos damos cuenta que - un alto porcentaje (28 %), presentan contaminación.

Nos damos cuenta que los antibióticos, anticontaminantes y otros conservadores, no evitan la contaminación.

S U M A R I O

S U M A R I O

Se muestrearon 20 vacunas antirrábicas, de 10 diferentes Laboratorios comerciales.

Se hicieron siembras bacteriológicas, utilizando medios de cultivo diferentes, tanto para gérmenes, Gram positivo como para Gram negativos.

Se mostró la presencia de contaminantes, con predominancia de Gram negativos (*Pseudomona* y *Shigella*).

El porcentaje total de contaminación fue de 28 % .

Los gérmenes aislados en orden de importancia fueron:

Hongos Mucor	40%
<i>Pseudomona</i> spp	30%
Hongos <i>Penicillium</i>	20%
<i>Shigella</i> spp	10%

La identificación de los gérmenes, se llevó a cabo por medio, de las características morfológicas, diferenciación -- Bioquímica, tinción de Gram, etc.



OFICINA DE
DIFUSION CIENTIFICA

R E F E R E N C I A S

B I B L I O G R A F I C A S

B I B L I O G R A F I A

- 1- BACTERIOLOGIA Y VIROLOGIA VETERINARIA
I. A. Merchant-R. Allen Packer
Pag. 263,267,324-327,567.
- 2- CARTER,G.R. Diagnostic procedure
in Veterinary Microbiology.
Pag. 31-37-46-54-55-59
- 3- FARMACOLOGIA Y TEREPEUTICA VETERINARIA.
L.MEYER JONES,A.B.,D.V.M.,M.S.,Ph.D.
Pag. 11-12-13
- 4- EL MANUAL DE MERK DE VETERINARIA.
Pag. 137-142
- 5- ENFERMEDADES INFECCIOSAS DE LOS
ANIMALES DOMESTICOS
HAGAN-BRUNER-GILLESPIE
Pag. 799-812
- 6- VACUNAS Y VACUNACION DE LOS
ANIMALES DOMESTICOS
J. FECHNER
- 7- MEDICINA VETERINARIA Y SALUD PUBLICA
CALVIN W. SCHWADE.
Pag. 140-178,454
- 8- PATOLOGIA Y TERAPEUTICA ESPECIALES
DE LOS ANIMALES DOMESTICOS.
HUTYRA-MAREK-MANNINGER-MOCSY
Pag.577-595
- 9- DIFCO MANUAL of DEHYDRATED CULTURE MEDIA
and REAGENTS for MICROBIOLOGICAL and
CLINICAL LABORATORY PROCEDURES.
Pag.29,88,130-131,144,158,171-173,182,238.
- 10- M.V.Z. JAVIER RIVERA HERNANDEZ
Comunicacion personal

- 11- STABLE CELL LINE
MODERN ADVANCE IN VACCINE PRODUCTION
A.L. BROWN, Ph.D.
- 12- SYMPOSIUM ON IMMUNITY TO SELECTED
CANINE INFECTIOUS DISEASES
June 15 1970-J.A.V.M.A. Vol. 156 N° 12
Pag. 1664-1665
- 13- UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
ESCUELA DE GRADUADOS
FACULTAD DE MEDICINA VET. Y ZOOT.
PRODUCCION DE VACUNAS
M.V.Z. Fernando Olguin Romero
- 14- UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
ESCUELA DE GRADUADOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOT.
PROFILAXIS INMUNOLOGICA
M.V.Z. Juan Garza. M. Sc.
- 15- VIROLOGIA MEDICA
F.J. FENNER
D.O. WHITE
Pag.178-181,343-348
- 16- TERAPEUTICA VETERINARIA
PRACTICA CLINICA EN PEQUENAS ESPECIES ANIMALES
KIRK
Pag.648-651
- 17- M.V.Z.,M.S.P. AMPARO VAZQUEZ FAVELLA
Comunicacion Personal
- 18- TECNICA PECUARIA EN MEXICO
1974