

ESTABLECIMIENTO DEL TIEMPO DE CADUCIDAD DE LA VACUNA ANTIRRABICA V-319 /ACATLAN, INACTIVADA CON BETA-PROPIOLACTONA MANTENIDA A 37°C SIN IRRADIACION SOLAR

ENRIQUE MELGAREJO BAÑOS

ANABELLE MELGAREJO BAÑOS

JOSE E. WEIMERSHEIMER RUBI

ELISEO HERNANDEZ BAUMGARTEN

RESUMEN.

Se estudió el lote experimental No. 1 de vacuna antirrábica cepa V-319/Acatlán inactivada con Beta-propiolactona. La potencia de la vacuna fue evaluada por la prueba de Habel a los 0, 10, 20, 30, 40, 60, 90 y 110 días. Para ello se utilizó una estufa bacteriológica que se mantuvo durante todo el experimento a 37°C. A 0, 10, 20, 30, 40, 60 y 90 días la vacuna produce una buena protección, pero a los 110 días la potencia decae en forma notable sin cubrir los requerimientos mínimos de la prueba.

Según el método de elaboración, las vacunas antirrábicas pueden ser preparadas en embrión de pollo, en cultivos celulares o a partir de tejido nervioso. Las que tienen origen en tejido nervioso sólo existen en forma comercial como vacunas inactivadas y las otras existen como vacunas de virus vivo modificado o vacunas inactivadas (Hernández, 1976). Las vacunas inactivadas presentan como ventajas la reducción en el costo de producción, pues no requieren del proceso de liofilización, ni la baja del título que se calcula por este proceso (Petermann y col., 1971), y ofrecen un manejo más seguro a nivel de campo ya que tienen mayor estabilidad a variaciones de temperatura (Cunha y col., 1977). Este

Proyecto de Investigación en Biotecnología en Salud Animal, Centro Nacional de Investigación en Microbiología, INIFAP-SARH, Km. 15.5, Carr. México-Toluca, México, D.F., C.P. 05110.

Tec. Pec. Méx. Vol. 25, No. 3 (1987)

tipo de biológico es adecuado para campañas de vacunación y exportación por su fácil manejo, sobre todo si se cumplen las condiciones para el empleo del mismo, ya que pueden ser transportadas a lugares poco accesibles por mantener su capacidad antigénica por un período más prolongado que las vacunas de virus atenuado, a temperaturas variables (Cunha y col., 1977).

Para este trabajo se utilizó la Cepa V-319/Acatlán, inactivada con Beta-propiolactona, elaborada en cultivos celulares y utilizada para el control del derriengue. Esta cepa fue desarrollada en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (Bijlenga, Hernández y Mar, 1971).

Se utilizó el lote piloto No. 1 con un título antes de inactivar de $10^{7.74}$ con el objeto de establecer el tiempo de caducidad y las condiciones de manejo de este biológico. De dicho lote se hicieron en forma estéril alícuotas de 40 ml y se mantuvieron en cámara fría a 4°C. Después se sacaron de ésta para ponerlas a 37°C (excepto el tiempo "0"), en una estufa bacteriológica, que se mantuvo durante todo el experimento a una temperatura de 37 ± 1 °C.

La titulación de la vacuna se hizo mediante la técnica de Habel (1959). La

CUADRO #1 CALENDARIO DE VACUNACION A 90 DIAS

TIEMPO	PONER ALICUOTAS A 37°C.	FECHA DE INOCULACION	VACUNACION	DESAFIO
90 días	24-IX-85	23-XII-85	1a.	6-I-86
90 días	26-IX-85	25-XII-85	2a.	6-I-86
90 días	28-IX-85	27-XII-85	3a.	6-I-86
90 días	1-X-85	30-XII-85	4a.	6-I-86
90 días	3-X-85	1-I-86	5a.	6-I-86
90 días	5-X-85	3-I-86	6a.	6-I-86

prueba de potencia se realizó a las "0" h a los 10, 20, 30, 40, 60, 90 y 110 días. Se utilizó una alícuota para cada vacunación, se siguió un calendario de inmunización con la finalidad de retirar la alícuota de vacuna de la estufa en la fecha de aplicación, para así evitar conservarla en el laboratorio a 4°C hasta la fecha de su aplicación. También se tuvo cuidado de que en algunos tiempos coincidiera la fecha del desafío a fin de hacer éste en forma simultánea y así manejar el virus el menor número de veces posible. En el Cuadro 1 se puede observar a manera de ejemplo el calendario correspondiente a los 90 días.

Se siguió un calendario semejante para cada uno de los tiempos en los que se evaluó la vacuna (10, 20, 30, 40, 60, 90 y 110). El tiempo "0" no incluye la exposición de la vacuna al calor.

En el Cuadro 2 se puede observar que el tiempo correspondiente a cero horas se repitió, pues los resultados en la primera ocasión no revelaron datos confiables porque los ratones presentaron una enfermedad diferente a rabia. Se analizaron por la técnica de inmunofluorescencia directa (Mar, 1976) y el 100% fueron negativos a rabia.

Los tiempos de 30 y 40 días fueron repetidos, ya que en la primera ocasión los resultados parecían dudosos con

respecto a los tiempos anteriores, sin embargo, los resultados de la repetición no presentaron grandes variaciones por lo que se procedió a sacar una media del índice de protección y otra de las DL50% contra las que protegió. Los tiempos de 30 y 40 días dieron un resultado de mayor grado de confiabilidad pues se obtuvieron índices de protección similares en cada caso y además ambos cumplieron con los requisitos mínimos para la misma.

En los tiempos de 60 y 90 días podemos observar que la vacuna todavía confiere un grado de protección adecuado, que decae en forma brusca a los 110 días y no pasa los requisitos mínimos de protección establecidos para la prueba de Habel.

Los resultados revelan que los índices de protección conferidos por la vacuna, después de ser inactivada, no muestran diferencias importantes a lo largo de 90 días del estudio, aún cuando se observa una clara tendencia a bajar. La brusca caída de la antigenicidad a los 110 días, parecería indicar la conclusión de un proceso que sucedió en forma parcial y que se manifiesta después de los 90 días.

Resulta claro que es difícil destruir la antigenicidad de la vacuna a 37°C y lo mejor es mantenerla en las condiciones señaladas por el productor. Por

CUADRO No. 2

RESULTADOS DE INDICES DE PROTECCION Y DOSIS LETALES

50% CONTRA LAS QUE PROTEGIO LA VACUNA

-TIEMPO	-DESAFIO	INDICES DE PROTECCION	DL50% CONTRA LAS QUE PROTEGIO
0 horas	8-IV-85	$10^{-3.12}$	1318
0 horas	28-X-85	10^{-5}	100000
10 días	24-VI-85	$10^{-4.92}$	83000
20 días	6-I-86	$10^{-4.546}$	35160
30 días	9-IX-85	$10^{-4.03}$	10800
30 días	6-I-86	$10^{-4.30}$	20280
40 días	9-IX-85	$10^{-4.82}$	66000
40 días	6-I-85	$10^{-3.93}$	8690
60 días	6-I-86	$10^{-4.32}$	20690
90 días	6-I-86	$10^{-4.12}$	13210
110 días	6-I-86	$10^{-0.52}$	3.31 (8)

Para satisfacer los requisitos mínimos, el grado de protección debe ser 1000 DL50%.

(8) No pasa los requisitos mínimos.

otra parte, el propósito de desarrollar una vacuna inactivada, es utilizarla en las zonas poco accesibles de México, donde no siempre es posible mantener la temperatura adecuada, ya que ofrece una mayor resistencia a los cambios de temperatura. Es probable que su utilidad se conduzca a campañas masivas de vacunación, donde el manejo de cualquier tipo de biológico es deficiente por no contar con las condiciones mínimas para obtener una buena protección en los animales susceptibles.

De este trabajo se concluye que la vacuna antirrábica cepa V-319/Acatlán inactivada con Beta propiolactona, puede aplicarse en zonas tropicales y subtropicales por su mayor estabilidad a temperaturas altas (37°C) lo que redundará en una mejor inmunidad. El hecho de que la vacuna haya retenido su índice de protección, a 37°C hasta por 90 días, no implica que pueda

manejarse sin refrigeración, sino que en caso de interrupción de la cadena fría desde el productor hasta el usuario, ésta ofrece una mayor seguridad de aplicar un biológico en buen estado.

Una recomendación importante, es que durante la conducción de este trabajo la vacuna se mantuvo alejada de la irradiación solar directa, pues se guardó a 37°C en una estufa bacteriológica. Por lo tanto, este biológico debe ser manejado a la sombra, ya que si se expone a la luz solar, su capacidad inmunizante puede sufrir un deterioro más rápido.

SUMMARY

The study of a experimental lot No. 1 of the antirrabic vaccine, strain V-319/Acatlan inactivated with B-propiolactone was used at different times, in a bacteriological stove exposed at 37°C for 0, 10, 20, 30, 40, 60, 90 and 110 days and evaluated the potency by the Habel test. At 0,

10, 20, 30, 40, 60 and 90 days the vaccine produced a good protection but at 110 days it descend notably and did not pass the minimal requeriment of the test.

LITERATURA CITADA

BIJLENGA, G., HERNANDEZ, B.E. y MAR, C.R., 1971. Vacunación experimental en ganado con una cepa de rabia de origen murciélagos vampiro, elaborada en cultivo celular. Resúmenes de la VIII Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG.

CUNHA, R.G., SILVA, R.A., N.M., 1977. Effect of a stabilizer on the esin tenence of the immunizing potency of on inactivated antirabies vaccine. Revista Brasileira de Biología 37 (2):345.

HABEL, K., 1959. Técnicas de laboratorio aplicadas a la rabia. OMS. Serie de monografías, 23:116.

HERNANDEZ, B.E., 1976. La rabia pareasiente bovina: Definición del problema y metodología de control. Ciencia Veterinaria. UNAM. 1:104.

MAR, C.R., 1986. Inmunofluorescencia. Morilla, G.A. y Bautista, C.R. Editores. Manual de inmunología, Ed. Diana. México, p. 98

PETERMANN, H.G., SOBLEBOY, J.P., LANG BRANCHE, R., 1971. Vaccination against rabies of carnivores and herbivores with an inactivated vaccine, produced in tissue culture. Bolletín de la Société des Sciences Vétérinaires et de Médecine comparés de Lyon. 73 (2):123.