

ESTABILIDAD DE LA VACUNA ANTIRRABICA V-319 ACATLAN INACTIVADA CON RADIACION GAMMA (COBALTO-60) ^a

José Ernesto Weimersheimer Rubí ^b

Elizabeth Loza Rubio ^b

RESUMEN.

Se evaluó la estabilidad antigénica de la vacuna v-319 Acatlán inactivada con radiación gamma (Co^{60}) cuantificando mediante la prueba de NIH (pr) un mismo lote de vacuna dividido en 7 sublotes. El título influyó directamente en el grado de estimulación antigénica, determinándose por desafío, como lo establece la prueba del Instituto Nacional De Salud de los E.U.A...; obteniéndose los resultados siguientes: sublote 1=0.722 de potencia relativa (pr); sublote 2=0.862 (pr); sublote 3=0.802 (pr); sublote 4=0.589 (pr); sublote 5=0.610 (pr); sublote 6=0.652 (pr); sublote 7=0.502 (pr). Con base en estos resultados se puede concluir que existe una mínima variación, $p>0.05$ en los títulos y/o en la estabilidad de la vacuna, determinado por la prueba estadística de ji cuadrada (0.3 entre los puntos máximos de variación en la pr); superando siempre los requerimientos mínimos establecidos por la OMS (igual o mayor a 0.3 de pr). El virus de desafío (CVS), se usó entre 8 y 22 % DL ratón. Esto implica una variable en la titulación del biológico, siendo esta aceptable dentro de este tipo de vacunas inactivadas.

Palabras Clave: Vacuna Antirrábica Inactivada, Estabilidad, Radiación Gamma.

Tec. Pecu. Méx. Vol. 32 No. 1, (1994)

Existen tres tipos de vacunas antirrábicas según el método de elaboración: a) tejido nervioso; b) vacunas avianizadas, preparadas en embrión de pollo; y c) vacunas preparadas en cultivos celulares (1,2,3,4). Dentro de las vacunas de virus vivo modificado, existe la vacuna avianizada Flury LEP (de bajo pasaje) y Flury HEP (de alto pasaje)(5); la "cepa" Kellev cultivada en huevos embrionados; la "cepa" Kissling cultivada en células de hámster; la "cepa" KWA producida en cultivos celulares de riñón de hámster (1,4,6,7); la vacuna "cepa" ERA que también se produce en cultivos celulares (5,6,8) y que fue la primera vacuna antirrábica que se autorizó en México y en los Estados Unidos de

América, para ser usada en todos los animales domésticos; proporcionando una inmunidad de cuando menos tres años en perros y ganado vacuno (2,6,9). Entre las vacunas de rabia de tipo inactivado que han existido a través del tiempo están: la vacuna tipo Fermi (1908); la tipo Umeno Doi (1916); la tipo Semple (1911); inactivadas con fenol y la vacuna Kelsner (1925) inactivada con cloroformo. La vacuna alurabiffa, elaborada con virus fijo en cultivos celulares de embrión de hámster (nil-II), que se presenta en forma liofilizada sin adyuvante, o en forma líquida con varios tipos de adyuvantes y demostrando estabilidad antigénica en presencia de estos (6,10). Recientemente, la vacuna "cepa" Pasteur RIV, hecha en la línea celular BHK-21, inactivada con β -propionolactona y adyuvada con fosfato de aluminio; ofrece una buena protección en algunas especies (11).

^a Recibido para su publicación el 1 de julio de 1993.

^b CENID-Microbiología, INIFAP, SARH, Carretera México-Toluca Km.15.5, Palo Alto D.F., Cuajimalpa. Proyecto Rabia.

En México, Bijlenga y Hernández aislaron una "cepa" a partir de un vampiro macho con infección generalizada de rabia, procedente de Acatlán de Pérez Figueroa, Oax. (9, 12). Esta "cepa" sufrió varios pases en cultivos celulares para llegar a ser finalmente una vacuna de virus vivo modificado (9), misma que se usó activamente en las campañas de control contra el derriengue, por la Dirección General de Sanidad Animal (S.A.R.H.), en México.

Posteriormente, se iniciaron estudios para la inactivación de la vacuna v-319 Acatlán, debido a que este tipo de vacunas al ser inactivadas, ofrecen un más fácil manejo y mayor seguridad en el campo, por ser más estables a las variaciones de temperatura y a la exposición solar (3, 4, 12). Aunado a esto, el tiempo y costo de producción se reduce notablemente por no necesitar el proceso de liofilización (13); por lo cual facilita la disponibilidad del biológico y descarta los factores que se manejan para determinar los títulos postliofilización, que por lo general, bajan por este proceso de 0.5 a 0.8 de logaritmo en relación al título inicial de la cosecha (13).

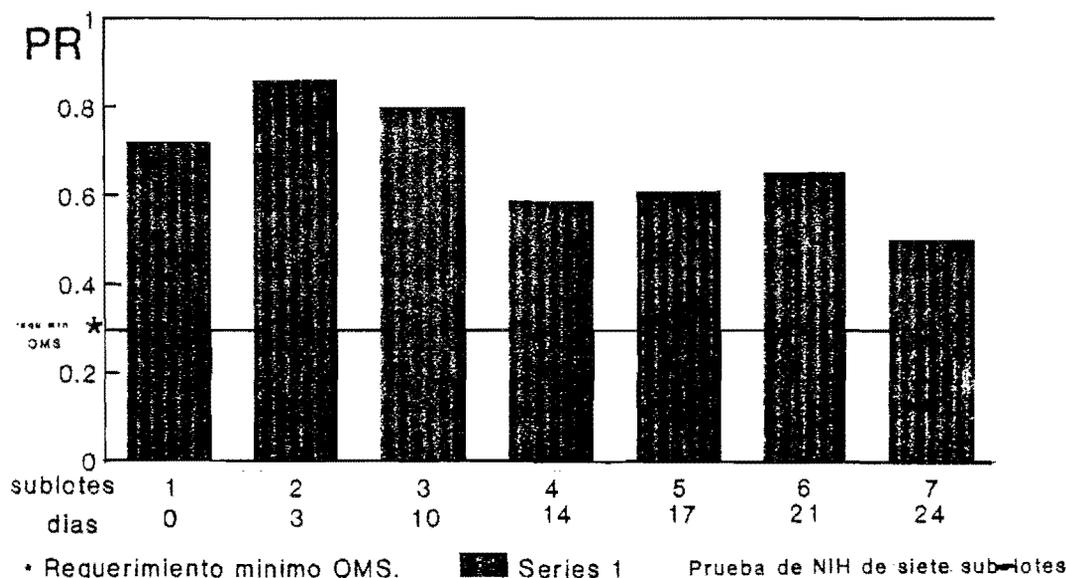
La inactivación inicial se llevó a cabo con beta-propiolactona (13); siendo esta sustancia de importación, de mantenimiento difícil y titulación laboriosa; pudiendo además producir problemas de oncogénesis por mala dosificación, hidrólisis o mal manejo. Posteriormente se buscaron nuevas alternativas de inactivación (10), por lo que estos autores realizaron un estudio para determinar la factibilidad de inactivar la vacuna antirrábica v-319 Acatlán, con radiación gamma (Co^{60}), determinándose que esto es posible a dosis de 0.75 a 0.84 MegaRads (7.5 a 8.4 KGrays), pues con esta dosis se mantiene una buena antigenicidad e inocuidad (13). Derivado de esto surge el objetivo del presente trabajo que es determinar, mediante la prueba del Instituto Nacional de Salud (NIH) (7), la estabilidad o variabilidad de un lote de vacuna que antes de

inactivarse tuvo un título de $10^{7.3}$ DL ratón 50 %. Se dividió el lote en 7 sublotos titulados en un plazo no mayor a los 30 días (0,3,10,14,17,21 y 28 días respectivamente), manteniéndose la vacuna a 4 C, sin irradiación solar. Se conoce que el título influye directamente en el grado de estimulación antigénica, determinándose éste por desafío, en la prueba de NIH. Para este efecto se utilizó la cepa CD-1 de ratón albino, cumpliendo todos los requerimientos para la prueba (7). El adyuvante utilizado fue el FAS-16 elaborado a partir de saponinas y que se consigue a nivel comercial.

Los resultados obtenidos se sometieron a una prueba de ji cuadrada (14) para determinar el grado de variabilidad. Estos fueron los siguientes: sublote 1=0.722 de potencia relativa (pr), sublote 2=0.862 pr; sublote 3=0.802 pr; sublote 4=0.589 pr; sublote 5=0.610 pr; sublote 6=0.652 pr; sublote 7=0.502 pr (Gráfica 1). Mediante la prueba estadística correspondiente no se encontró evidencia estadística significativa ($p>0.05$), por lo que se determina que, la estabilidad dentro de un mismo lote de vacuna antirrábica, v-319 Acatlán, inactivada con radiación gamma (Co^{60}), es mínima y no representativa (entre los sublotos 2 y 7 lo mas alto y bajo respectivamente fue 0.3 puntos de variación máxima en el calculo de la potencia relativa). Siempre se superó por un buen margen los requerimientos mínimos establecidos por la OMS (7) (el requerimiento mínimo dado por la OMS es 0.3 de potencia relativa). Cabe mencionar que el virus de desafío utilizado (CVS) (7) puede tener una fluctuación en su título entre 5 y 50 % DL ratón (en este caso fluctuó entre 8 y 22 % DL ratón). Esto implica un efecto variable dentro de las titulaciones hechas, como otras variables de manejo en la producción y titulación de vacunas; así como la susceptibilidad individual de cada animal, que en las pruebas biológicas deben de ser siempre estimadas.

GRAFICA 1

vacuna irradiada con Co-60



SUMMARY

In order to evaluate the antigenic stability of the Co⁶⁰ gamma irradiated antirrabic inactivated Acatlán vaccine v-319. One batch of vaccine was divided in seven lots and the titre of each one was assayed by the NIH test, with the following results: lot 1=0.722 relative potency (rp); lot 2=0.862 rp; lot 3=0.802 rp; lot 4=0.589 rp; lot 5=0.610 rp; lot 6=0.652 rp; lot 7=0.502 rp. There was a minimal variation in potency ($p > 0.05$) (0.3 was the maximum variation between 2 lots). That was because the mice challenge was performed with 8-22 % mouse lethal dosage of the challenge virus (CVS). This variation did not affect the immunogenicity. The titre was always within WHO requirements.

Key Words: Inactivated Rabies Vaccine, Stability, Gamma - Radiation.

REFERENCIAS:

- 1.-Correa G P, Solana M P. Potencia de vacunas contra el derriengue adquiridas en farmacias veterinarias y sus laboratorios de producción, Tec. Pecu. Mex. 1966, 8:10.
- 2.-Correa G P. Enfermedades virales de los animales domésticos monogástricos, 4a.edición, 1982, México Vol.1.163:165.
- 3.-Melgarejo B A, Hernandez B E. Duracion de la viabilidad de la vacuna antirrábica cepa V - 319 Acatlán, despues de reconstituida. Tec. Pecu. Mex, 1983. 44:96:101.
- 4.-Melgarejo B E. Caducidad acelerada de la vacuna inactivada v - 319 Acatlán, Tesis De Licenciatura

Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1986, 9:12.

- 5.-Batalla C D, Arellano S C, Sureau P. Evaluación serológica de las vacunas antirrábicas para bovinos que existen actualmente en México, Tec. Pecu. Mex. 1971: 18:22.
- 6.-Bear G. The natural history of rabies. Academic Press, New York, 1975. U.S.A. 155:156.
- 7.-Kaplan M, Koprowsky H. Tecnicas de Laboratorio. La Rabia.1976. O.M.S. Suiza. 145:151.
- 8.-Batalla C D. Prevención y control de la rabia en humanos y otras especies. En:Morilla G.A. Inmunología Veterinaria. 1a Ed. México: Diana, 1989. 417:420.
- 9.-Bijlenga G, Hernandez B E. Adaptation, attenuation and plaque purification of a rabies virus isolate (V-319) from a vampire bat (*Desmodus rotundus*). Cornell Veterinarian, Vol.70: No.3, July,1980. 290:291.
- 10.-Hernandez B E, Morales R J, Arellano S C, Campos V J, Lopez B B, Perez R H. Evaluación de una vacuna comercial antirrábica inactivada para bovinos, producida en cultivo de tejidos (alrabiffa). Tec. Pecu. Mex.1976; 30. 57:58.
- 11.-Cuevas R S, Morales R J, Batalla C D, Hernandez B E. Colmenares V G. Evaluación de la vacuna antirrábica inactivada cepa Pasteur RIV en bovinos mediante desafio con la cepa patógena de virus rábico Cass-88. Tec. Pecu. Mex.1991; 29 (1) 1.
- 12.-Hernandez B E. La Rabia pareasiente bovina: definición del problema y metodología de control.

Ciencia Vet. UNAM. México D.F, 1976.
100:104.

- 13.-Weimersheimer R J, Loza R E, Mejía S P.
Desarrollo de un método de inactivación a base
de radiación gamma para la vacuna antirrábica
V-319 Acatlán. Avances en Ciencias
Veterinarias, Universidad de Chile. 1991. 6
(1):70:73.
- 14.-Reyes C P. Bioestadística aplicada. Ed.Trillas,
1987. 185:187.