

PREPARACION DE VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO USANDO ANTIGENOS ADSORBIDOS SOBRE HIDROXIDO DE ALUMINIO

D. Abaracón¹; J.A. Mesquita¹; H. Giacometti¹; S. Sallúa²; R. Pérez Rama³

COMUNICACION BREVE

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA) ha publicado varios trabajos sobre vacunas con adyuvante oleoso. Estas vacunas consisten en una emulsión primaria, tipo agua-en-aceite, del virus de la fiebre aftosa multiplicado en células BHK₂₁ en botellas rotantes o en suspensión e inactivado con etilenimina binaria (BEI) (2, 5) y emulsionado, en la fase oleosa, con 90% de Marcol 52³ y 10% de mono-oleato de manitol (1, 3, 4, 6). Este tipo de vacuna es usado en bovinos por vía intramuscular a la dosis de 5 ml.

La vacuna así producida contiene 2,5 ml de la mezcla trivalente de antígenos inactivados por dosis, lo que de no usarse algún procedimiento de concentración, limita la masa antigénica a ser incorporada a la vacuna. La concentración del antígeno antes de la preparación de la vacuna ofrece ciertas ventajas que deben ser consideradas. Por ejemplo, la reducción del volumen de antígeno por concentración permite reducir la capacidad necesaria de las cámaras a 4°C, lo cual es una consideración importante en producción industrial, y también permite aumentar la cantidad de virus por dosis de vacuna, en caso de que esto sea indicado por las circunstancias epidemiológicas, como por ejemplo cuando las cepas actantes en el campo son parcialmente heterólogas a las usadas en las vacunas. Finalmente los antígenos concentrados pueden ser usados en una relación agua-en-aceite que resulte en emulsiones menos viscosas.

En esta comunicación se informa sobre la preparación de vacuna con antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio. Esta técnica es simple, bien conocida por los laboratorios productores de vacunas y muy efectiva ya que aproximadamente el 99,9% del virus es adsorbido, mientras que la mayor parte de las proteínas no víricas son eliminadas con el líquido sobrenadante.

Se describen los resultados obtenidos en varios experimentos realizados en bovinos con vacunas en las que el antígeno fue adsorbido en esta forma.

La fórmula básica de estas vacunas experimentales consistió en una emulsión primaria tipo agua-en-aceite, en la cual el antígeno adsorbido sobre el hidróxido de aluminio fue emulsificado en un volumen doble de la fase oleosa (90% de Marcol 52 y 10% de mono-oleato de manitol). La relación de las fases así como el volumen de la dosis variaron levemente en los varios experimentos.

En todos los experimentos se usó una vacuna de referencia, formulada de acuerdo con el procedimiento estándar del CPFA, conteniendo la misma masa antigénica que las vacunas experimentales. En las vacunas experimentales el antígeno fue mezclado con AL(OH)₃ (al 2,0% de AL₂O₃) en proporción de 92 partes de virus y 8 partes de hidróxido. Luego de hecha la adsorción se concentró en forma que cada dosis de vacuna de 2 ó 3 ml equivaliera a 2,5 ml de la mezcla trivalente de virus OAC, igual que en la dosis de 5 ml de las vacunas de referencia.

Los animales usados en los experimentos tenían edad variable entre 6 a 18 meses, siendo homogéneos dentro de cada experimento. Nunca habían sido vacunados y procedían de establecimientos libres de fiebre aftosa durante varios años. Los anticuerpos antes y después de la vacunación o revacunación fueron evaluados por seroprotección en ratones lactantes (7) y los resultados expresados como expectativas porcentuales de protección (EPP) (8).

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS), Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Dirección de Lucha Contra la Fiebre Aftosa (DILFA), Ruta Brig. Gral. Juan Antonio Lavalleja, Km 29, Pando, Canelones, Uruguay.

³Marcol 52 - Exxon Corporation, U.S.A.

En 7 experimentos (Cuadros 1, 2 y 3) en los cuales 208 bovinos fueron vacunados con vacuna oleosa, se comprobó que los antígenos que produjeron buenas vacunas en la formulación de referencia tuvieron por lo menos igual comportamiento luego de adsorbidos sobre hidróxido de aluminio en las vacunas experimentales. La reducción de la dosis de vacuna posibilitada por concentración del antígeno ofrece además la ventaja de requerir menores cantidades de aceite y emulsificante, ambos productos importados y de precio relativamente

elevado. Sin embargo, la dosis no debe ser demasiado pequeña porque crearía dificultades operativas en el momento de la vacunación. Por otro lado, el hidróxido de aluminio en las concentraciones en que fue incorporado a las vacunas experimentales no produjo efectos colaterales indeseables.

En el experimento N° 8 (Cuadro 4), tanto las vacunas experimentales como las de referencia, conservadas por 1 año a 4°C, no demostraron pérdida detectable de potencia.

CUADRO 1. Expectativas porcentuales de protección (EPP) en bovinos vacunados con vacunas de adyuvante oleoso, con o sin concentración del antígeno con hidróxido de aluminio

Experimento N°	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno trivalente por dosis bovina (ml)	N° animales por grupo	Virus	EPP			
						0	1	3	6
1	Exper. ^a	2	2,5	12	O	< 30	90	87	
					A	< 30	98	91	
					C	< 30	98	87	
	Control ^b	5	2,5	12	O	< 30	99	83	
					A	< 30	91	90	
					C	< 30	99	83	
2	Exper.	3	2,5	12	O	< 30	79	68	
					A	< 30	88	88	
					C	< 30	97	81	
	Control	5	2,5	12	O	< 30	90	83	
					A	< 30	91	88	
					C	< 30	98	89	
3	Exper.	3	2,5	10	O	< 30	99	85	
					A	< 30	95	95	
					C	< 30	98	91	
	Control	5	2,5	10	O	< 30	99	77	
					A	< 30	96	94	
					C	< 30	96	88	
4	Exper.	3	2,5	12	O	< 30	99	70	60
					A	< 30	98	89	79
					C	< 30	97	74	75
	Control	5	2,5	12	O	< 30	89	52	46
					A	< 30	89	85	75
					C	< 30	95	63	62

^aVacuna experimental oleosa, con antígeno adsorbido sobre Al(OH)₃, relación fases acuosa + oleosa 1 + 2.

^bVacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa 1 + 2.

MPV = Meses posvacunación.

CUADRO 2. Expectativas porcentuales de protección (EPP) en bovinos vacunados y revacunados a los 6 meses con vacunas de adyuvante oleoso, con o sin concentración del antígeno con hidróxido de aluminio

Experi- mento Nº	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno trivalente por dosis bovina (ml)	Nº animales por grupo	Virus	EPP						
						MPV	0	1	2	4	6	
5	Exper. ^a	2	2,5	12	O	22	95	88	77	47	97	98
					A	22	99	98	98	96	96	98
					C	29	98	89	60	64	85	90
	Control ^b	5	2,5	12	O	24	84	85	58	55	85	91
					A	21	98	99	98	97	97	95
					C	30	95	82	65	69	85	81

^a Vacuna experimental con antígeno adsorbido sobre $Al(OH)_3$, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 2.

^b Vacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 1.

MPV = Meses posvacunación.

MPR = Meses posrevacunación.

CUADRO 3. Expectativas porcentuales de protección (EPP) en bovinos vacunados y revacunados a los 3 meses, con vacunas de adyuvante oleoso, con o sin concentración del antígeno con hidróxido de aluminio

Experi- mento Nº	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno trivalente por dosis bovina (ml)	Nº animales por grupo	Virus	EPP					
						MPV	0	1	3	6	12
6	Exper. ^a	2	2,5	10	O	< 30	97	91	96	82	76
					A	< 30	99	99	87	95	84
					C	< 30	92	95	96	92	91
	Control ^b	5	2,5	10	O	< 30	98	93	95	79	84
					A	< 30	99	99	95	89	94
					C	< 30	99	99	95	89	94
7	Exper.	3	2,5	12	O	< 30	92	81	91	86	73
					A	< 30	88	87	91	84	62
					C	< 30	92	81	95	89	78
	Control	5	2,5	12	O	< 30	82	69	91	88	78
					A	< 30	82	80	93	87	62
					C	< 30	87	76	94	82	81

^a Vacuna experimental con antígeno adsorbido sobre $Al(OH)_3$, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 2.

^b Vacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 1.

MPV = Meses posvacunación.

MPR = Meses posrevacunación.

Para evaluar la reacción local producida por las vacunas oleosas con antígenos adsorbidos sobre hidróxido de aluminio frente a las vacunas oleosas de referencia, se usaron varios cientos de bovinos de diferentes edades y razas, a los que se aplicó un tipo de vacuna en cada lado del pescuezo por vía

intramuscular o subcutánea. Cuando se usó la vía intramuscular no se observaron reacciones locales. Por vía subcutánea, la vacuna conteniendo hidróxido mostró una leve tendencia a dar reacción persistente, pero la conclusión más evidente de estos

ensayos es que la reacción local depende más del individuo que del tipo de vacuna. Los animales que mostraron una reacción mayor de lo normal frente a un tipo de vacuna, también lo mostraron frente a la otra.

CUADRO 4. Resultados de las expectativas porcentuales de protección (EPP) a los 30 días posvacunación con vacunas experimentales y estándar recién preparadas y luego de conservadas a 4°C por 12 meses.

Experimento Nº	Vacuna	Dosis bovina (ml)	Antígeno por dosis bovina (ml)	Meses de conservación a 4°C	EPP ^a		
					Virus		
					O	A	C
8	Exper. ^b	2,0	2,5	1	95	99	98
				12	99	96	98
	Control ^c	5,0	2,5	1	84	98	95
				12	93	96	87

^a Grupos de 12 animales.

^b Vacuna experimental con antígeno adsorbido sobre Al(OH)₃, relación fases acuosa + oleosa = 0,7 + 1,3.

^c Vacuna oleosa estándar, relación fases acuosa + oleosa = 1 + 1.

REFERENCIAS

- ABARACON, D., ALONSO FERNANDEZ, A., MAGALLANES, N., CHARLES, E.G., DURINI, L.A. Protección de bovinos después de vacunados con vacunas antiaftosas con adyuvante oleoso. (Protection of cattle following vaccination with oil-adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 37-38: 41-43, 45-47, 1978.
- ABARACON, D., GIACOMETTI, H., MESQUITA, J.A. El uso de la etilenimina binaria (BEI) como inactivante de virus de la fiebre aftosa producido por diferentes técnicas semi-industriales. (The use of binary ethylenimine (BEI) for the inactivation of foot-and-mouth disease virus produced by different semi-industrial techniques). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 33-34: 1-5, 7-11, 1979.
- AUGE DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Aplicación en el campo de vacuna antiaftosa oleosa e inactivada: vacunación y revacunación de bovinos jóvenes. (Field application of inactivated oil adjuvanted FMD vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 19-20: 31-38, 39-47, 1975.
- AUGE DE MELLO, P., ASTUDILLO, V., GOMES, I., CAMPOS GARCIA, J.T. Respuesta inmunitaria de bovinos adultos vacunados contra la fiebre aftosa con vacuna oleosa. (Immune response of adult cattle vaccinated with oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccines). *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 26: 23-25, 27-29, 1977.
- BAHNEMANN, H.G. Binary ethylenimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.* 47: 47-56, 1975.
- CASAS OLASCOAGA, R. Summary of current research on the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center on oil adjuvanted vaccines. *Bull. Off. int. Épiz.* 89 (11-12): 1015-1054, 1978-79.
- CUNHA, R.G., BAPTISTA, Jr., J.A., SERRÃO, U.M., TORTURELLA, I. El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. Vet., B.Aires*, 19 (110): 243-267, 1957.
- GOMES, I., ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: Evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa* 17-18: 9-16, 1976.