

VIDA UTIL DE UNA VACUNA ANTIAFTOSA INACTIVADA CON ADYUVANTE OLEOSO

D. Abaracón¹; N. Magallanes²; E.G. Charles³; L.A. Durini³; E. Frick³;
G. Fernández de Albarracín³; E. Degiorgi de Burghi³; T. Radisich³

RESUMEN

La vida útil de una vacuna antiaftosa inactivada con adyuvante oleoso, almacenada a +4°C, fue seguida durante un período de 15 meses. No se observó pérdida significativa de potencia durante ese período por prueba directa de desafío en bovino y pruebas de anticuerpos. Simultáneamente se probó una vacuna de hidróxido de aluminio-saponina, la que mantuvo su inmunogenicidad durante 13 meses.

INTRODUCCION

En un estudio previo (6) se observó que vacunas de adyuvante oleoso, almacenadas durante períodos prolongados, mantuvieron su inmunogenicidad pero no fue realizada una comparación de inmunogenicidad de varias muestras de una misma vacuna almacenada durante diferentes tiempos.

El presente estudio fue efectuado para establecer si el almacenamiento durante 15 meses a +4°C afecta la inmunogenicidad de este tipo de vacuna. Como referencia, fue incluida otra vacuna antiaftosa elaborada con los mismos antígenos, pero adsorbidos en hidróxido de aluminio y con el agregado de saponina. La inmunogenicidad de esas vacunas fue controlada en bovinos después de varios períodos de almacenamiento.

MATERIALES Y METODOS

1. Virus

Se utilizaron las cepas O₁ Campos, A_{2,4} Cruzeiro y C₃ Resende, producidas en el Centro Pana-

¹Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, OPS/OMS, Caixa Postal 589, 20000 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Consultor de la OPS/OMS en Argentina. Dirección actual: Director General de Servicios Veterinarios, Ministerio de Agricultura y Pesca, Constituyente 1476, Montevideo, Uruguay.

³Servicio de Laboratorios (SELAB), SENASA, Chorroarín 134, Buenos Aires, Argentina.

americano de Fiebre Aftosa (CPFA) en cultivos de células BHK_{2,1}C13 en suspensión. Las suspensiones infecciosas así obtenidas fueron inactivadas con etileneimina binaria (BEI) (4). Las características de esos antígenos están indicadas en el Cuadro 1.

CUADRO 1. Características de los antígenos de la fiebre aftosa usados en la preparación de las vacunas

Antígenos	Títulos infectantes	TFC ^b
O ₁ Campos	7,5 ^a	1/20
A _{2,4} Cruzeiro	8,2	1/18
C ₃ Resende	8,2	1/22

^aLog₁₀ cultivo de células BHK DI₅₀%/ml.

^bTFC = Título fijación del complemento 50% (4UHC₅₀-90').

2. Vacuna trivalente con adyuvante oleoso

La vacuna trivalente con adyuvante oleoso consistió en una mezcla de antígenos aftosos en una suspensión acuosa emulsificada con partes iguales de la fase oleosa (Marcol 52, 90% y Arlacel A, 10%) (2). En un emulsificador de 50 litros se prepararon, en la forma descrita (3), 30 litros de vacuna que contenían una mezcla de los tres antígenos. Cada dosis de 5 ml de vacuna trivalente con 0,83 ml de cada una de las suspensiones de antígenos, fue inoculada por vía intramuscular.

3. Vacuna trivalente hidróxido-saponina

Se preparó un lote de 72 litros de vacuna de acuerdo con la técnica descrita (1) utilizando los mismos antígenos de la vacuna oleosa. La dosis fue de 5 ml por vía subcutánea y contenía el

equivalente a las siguientes suspensiones de antígenos: 3 ml del tipo O, 2 ml del tipo A y 2 ml del tipo C.

4. Controles de las vacunas

La vacuna oleosa fue controlada en cuanto a su viscosidad, tipo de emulsión, estabilidad (centrifugando a 1000 g durante una hora y sometiéndola luego a 37° y 55°) y por determinación de su título de fijación del complemento (FC) después de la ruptura de la emulsión por adición de aceite vegetal (2). Los resultados de estos controles mostraron que la vacuna era del tipo agua-en-aceite y poseía adecuada viscosidad y estabilidad. Durante el período de preparación de la vacuna no hubo disminución apreciable del título de FC.

Tanto la vacuna oleosa como la de hidróxido-saponina fueron sometidas a controles de esterilidad en agar-Sabouraud, caldo tioglicolato y caldo triptosa fosfato, ambas con resultado negativo.

5. Prueba de eficacia en cobayos después de la preparación de la vacuna

Se utilizaron cobayos de 3 a 4 meses de edad y 550 ± 50 g de peso. Grupos de 6 cobayos fueron inoculados por vía intramuscular a la dosis de 0,25 ml. El índice C fue determinado después de 30 días de la vacunación mediante desafío por inoculación en una pata con cepas de virus aftoso O₁ Campos, A₂₄ Cruzeiroiro y C₃ Resende adaptadas a cobayos, de acuerdo con la técnica standard (5). Todos los índices C para los tres virus en ambas vacunas fueron >4,0.

6. Prueba de eficacia en bovinos

Fueron usados novillos Hereford de 2 años y 250 a 280 k procedentes del área libre de fiebre aftosa en Argentina. La vacunación se realizó con vacunas que habían estado almacenadas por diferentes períodos según se indica en el Cuadro 2, y los bovinos fueron desafiados a los 30 días posvacunación (DPV). Poco antes del desafío los animales fueron transportados a la unidad de aislamiento del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) en Buenos Aires y fueron inoculados por vía intradermolingual con 10.000 DI₅₀/ratón lactante. Los tipos de virus se detallan en el Cuadro 2. Los bovinos fueron examinados a las

48 horas posinoculación para apreciar lesiones de lengua y a los 7 días para observar lesiones en las patas.

CUADRO 2. Protección de bovinos vacunados con vacunas contra la fiebre aftosa almacenadas durante diferentes tiempos

Vacuna	Cepas de desafío	Meses de almacenamiento de las vacunas a + 4°C			
		1	8	13	15
Con adyuvante oleoso	O ₁	9/9 ^a	—	—	12/12
	A ₂₄	8/8	12/12	12/12	—
	C ₃	8/8	—	—	12/12
Con hidróxido de aluminio-saponina	O ₁	8/8	—	—	—
	A ₂₄	8/8	12/12	11/12	—
	C ₃	8/8	—	—	—

^a Número de animales protegidos/Número total de animales.

7. Determinación de anticuerpos

Se extrajo suero de todos los bovinos antes de la vacunación y previamente a la infección de prueba. Las pruebas de seroprotección en ratones fueron realizadas de acuerdo con la técnica descrita (7) y los resultados expresados en expectativa porcentual de protección (8).

RESULTADOS

Los bovinos vacunados con vacuna oleosa almacenada por 1, 8, 13 y 15 meses estaban totalmente protegidos contra el desafío. Los bovinos que recibieron la vacuna de hidróxido saponina almacenada por 1 y 8 meses también estaban totalmente protegidos así como 11 de 12 animales que recibieron esta misma vacuna pero almacenada por 13 meses.

El Cuadro 3 muestra los resultados de los sueros en las pruebas de seroprotección (SP). Con ambas vacunas, la respuesta de anticuerpos fue similar aun después de prolongados períodos de almacenamiento de las vacunas.

CUADRO 3. *Media de la expectativa porcentual de protección de bovinos después de la vacunación con vacunas antiaftosas almacenadas durante diferentes tiempos*

Vacuna	Tipo de virus	Meses de almacenamiento a +4°C			
		1	8	13	15
Con adyuvante oleoso	O ₁	97 ± 5	98 ± 3	94 ± 10	98 ± 1
	A ₂₄	96 ± 7	98 ± 2	88 ± 17	...
	C ₃	99	97 ± 5	80 ± 20	96 ± 5
Con hidróxido de aluminio-saponina	O ₁	93 ± 12	96 ± 3	78 ± 29	
	A ₂₄	92 ± 14	98 ± 3	93 ± 8	
	C ₃	98 ± 3	91 ± 4	81 ± 20	

... No hecho.

DISCUSION

El presente estudio proporciona información sobre la duración de la potencia de una vacuna de adyuvante oleoso mantenida a 4°C durante 15 meses. Las pruebas en bovinos indican que no hubo pérdida de potencia apreciable después de ese período de almacenamiento. Una vacuna de referencia, de hidróxido de aluminio mantuvo su inmunogenicidad hasta 13 meses. Los resultados de las pruebas de seroprotección en ratón lactante confirman estas observaciones.

Las pruebas de descarga directa utilizadas en el presente estudio no detectan diferencias de potencia entre dos vacunas que protegen a todos los animales vacunados. En futuros experimentos es aconsejable usar el método de las dosis protectoras 50%. Se estima que son necesarios nuevos estudios sobre la duración de inmunogenicidad de las vacunas antes y después de su almacenamiento por períodos prolongados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Ivo Gomes por la realización de las pruebas de seroprotección.

REFERENCIAS

1. 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). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 33-34*: 1-5, 7-11, 1979.
2. AUGÉ 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 foot-and-mouth disease vaccine: vaccination and revaccination of young cattle). *Bltm Centro Panamericano Fiebre Aftosa 19-20*: 31-38, 39-47, 1975.
3. AUGÉ DE MELLO, P.; MESQUITA, J.A. Preparation of water-in-oil emulsion foot-and-mouth disease vaccine in a semi-industrial scale at the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center. (En preparación).
4. 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.
5. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para el control de vacuna antiaftosa. *Ser. Man. Téc.* 2, 1980.

6. CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA; DIRECCION DE LUCHA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. Prueba de potencia para vacunas contra la fiebre aftosa de adyuvante oleoso: ensayos de DP_{50} en cobayos y en bovinos de una vacuna preparada en forma semi-industrial con una emulsión del tipo agua en aceite. (Potency testing of oil adjuvanted foot-and-mouth disease vaccine: PD_{50} assays of a semi-industrial water-in-oil type emulsion vaccine in guinea pigs and cattle). *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 29-30*: 55-59, 61-65, 1978.
7. 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* (11): 243-267, 1957.
8. GOMES, I.; ASTUDILLO, V. Foot-and-mouth disease: evaluation of mouse protection test results in relation to cattle immunity. *Bln Centro Panamericano Fiebre Aftosa 17-18*: 9-16, 1975.