

<b>Comunicación breve</b>
---------------------------

## LA VACUNA ANTIAFTOSA CON ADYUVANTE OLEOSO Y SU POSIBLE INFLUENCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS EN BOVINOS

Pedro Torres<sup>1</sup>, María Celia Antognoli<sup>2</sup>, Ana Rita Moreira<sup>3</sup>, Isabel N. de Kantor<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Servicio Nacional de Sanidad Animal, Gerencia de Luchas Sanitarias, (GELSA-SENASA)*  
Avda. Paseo Colón 367 (1330) Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup>*Instituto de Bacteriología, CICV/INTA*  
Casilla de correo 67 (1708) Morón, Buenos Aires, Argentina

<sup>3</sup>*E.E.A.INTA*  
Casilla de correo 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina

<sup>4</sup>*Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ/OPS/OMS)*  
Casilla de correo 44 (1640) Martínez, Buenos Aires, Argentina

*Se investigó la posible influencia de la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso - aplicada de acuerdo con el Plan Nacional de Erradicación - sobre la respuesta a la tuberculina PPD, y sobre el nivel de anticuerpos séricos anti-Mycobacterium bovis determinado por un ensayo inmunoenzimático (ELISA). Se incluyeron 40 bovinos de un establecimiento oficialmente libre de tuberculosis. Se efectuaron dos vacunaciones con seis meses de intervalo, pruebas tuberculínicas y sangrías para ELISA. Las sangrías se realizaron al inicio del estudio, a los cinco días y a los 90 días después de cada vacunación. Los resultados obtenidos en ambas pruebas diagnósticas de tuberculosis, antes y después de dos vacunaciones con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso no mostraron interferencia de esa vacuna sobre la especificidad de las respuestas tuberculínicas o de los niveles de anticuerpos anti-M.bovis. Se analizó también la presencia de anticuerpos anti-M.paratuberculosis por ELISA, hallándose resultados positivos en 6% de los animales.*

Se ha comprobado que la vacuna antiaftosa, con o sin adyuvante oleoso no es causa de falsos resultados negativos en la prueba tuberculínica realizada en bovinos infectados por *Myobacterium bovis* (4). En una investigación anterior en bovinos libres de tuberculosis se observó que la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso no influía sobre los resultados de la prueba

tuberculínica ni sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-M.bovis (7).

El Plan de Control y Erradicación de la Fiebre Aftosa en Argentina incluye vacunaciones semestrales en bovinos de hasta 12 meses de edad, y anuales en animales adultos. A partir de 1993 se ha iniciado el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina, cuyo método diagnóstico básico es la prueba tuberculínica (11). Desde entonces, algunos productores ganaderos y veterinarios comunicaron al Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) la

---

Solicitar separatas al:  
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS).

observación de reacciones tuberculínicas transitoriamente positivas luego de dos o más vacunaciones con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

La vacuna antiaftosa es una suspensión de antígenos de los virus de la fiebre aftosa inactivados con un inactivante de primer orden y con adyuvante que consiste de aceite mineral y un emulsificante. Se ha demostrado que el aceite mineral estimula la proliferación de linfocitos y la producción de linfoquinas, además de la respuesta humoral al antígeno. Sus depósitos, luego de vacunaciones repetidas, podrían eventualmente determinar la formación de granulomas, y actuar como estímulos inespecíficos para la respuesta tuberculínica (1,6).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, se realizó el presente estudio a fin de determinar si la vacunación repetida de bovinos con adyuvante oleoso podrá inducir reacciones tuberculínicas falsas positivas o influir en el mismo sentido los resultados de un ensayo de inmunoenzima (ELISA) para la detección de IgG anti-*M. bovis*.

Se utilizaron 40 bovinos, hembras pardosuzos de 36 meses de edad promedio al inicio del estudio ubicados en un establecimiento oficialmente libre de tuberculosis. Sesenta días antes de iniciar la experiencia se efectuó una prueba tuberculina ano-caudal a los 40 animales, en la que se constató la ausencia de reactores.

Los animales identificados fueron debidamente asignados a dos grupos, de 20 bovinos cada uno, sin que ello significase separación física entre ambos grupos. El estudio no varió las condiciones habituales de mantenimiento y manejo. El día 0 se vacunaron los 40 bovinos con vacuna antiaftosa oleosa. A los 5 y a los 90 días se hicieron pruebas tuberculínicas ano-caudal al grupo 1, y cervical simple al grupo 2. A los 180 días a partir del día 0, se efectuó una nueva vacunación con vacuna antiaftosa oleosa seguida de pruebas tuberculinas 5 y 110 días después (a 185 y 290 días respectivamente desde el inicio de la experiencia). En la última tuberculinización se empleó la prueba doble comparativa cervical en ambos grupos. Se recolectaron muestras de sangre para ELISA los días 0 y 5 del estudio, y nuevamente a los 90, 180, 185 y 290 días.

Se emplearon tuberculinas PPD bovina y aviar producidas por la Gerencia de Laboratorios

(GELAB) del SENASA: PPD bovina, 1 por GELAB/ SENASA: PPD bovina, 1 mg/ml, series 10 y 44; PPD aviar, 0,5mg/ml, serie 40. Se aplicaron las pruebas tuberculínicas ano-caudal, cervical simple y cervical comparativa, en el cuadro del cuello. Se realizó inoculación intradérmica con 0,1 ml de PPD, y lectura por medición con un cutímetro del grosor de la piel antes y a las 72 horas posinoculación (11).

En la prueba ano-caudal se consideró a un aumento del grosor de la piel igual o mayor a 5 mm como respuesta positiva, entre 3 y 4 mm, respuesta dudosa, y menor de 3 mm como negativa. En la prueba cervical simple se consideró respuesta positiva un aumento del grosor de la piel de 3 mm o más, y negativa cuando fue menor de 3 mm (11). Para la interpretación de la prueba comparativa se consideró reaccionante positivo aquel con 4 mm o más de respuesta a PPD bovino que a PPD aviar (2).

**Enzimoimmunoensayo (ELISA) para detección de anticuerpos IgG anti *Mycobacterium bovis*.** Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena coccígea media. Se efectuó una prueba ELISA con antígeno PPD bovino, de acuerdo con los métodos ya descriptos (10).

**ELISA para detección de anticuerpos IgG anti-*M.paratuberculosis*.** Se efectuó en la última muestra de suero recolectada de cada uno de los 35 animales del estudio, siguiendo los métodos ya descriptos (8).

Los resultados de la prueba tuberculínica ano-caudal fueron siempre negativos. En la prueba efectuada 5 días después de la primera vacunación con vacuna antiaftosa oleosa, solo se observó en un animal (n° 637) un aumento de 3 mm en el grosor de la piel, que lo clasificaría como reactor sospechoso. En este animal y en los 19 restantes del grupo 1 no hubo reacción alguna, tanto en la prueba ano-caudal como en la cervical comparativa, realizada a los 290 días del inicio de la experiencia.

Los resultados de la prueba cervical simple (grupo 2) fueron negativos, salvo en los casos y oportunidades que se presentan (cuadro 1) en 13 animales, en los cuales se observaron aumentos

**CUADRO 1.** Resultados de las pruebas tuberculínicas cervical simple y comparativa, (mm de aumento en el grosor de la piel), en 13 bovinos del grupo 2, que presentaron respuesta, en una o más pruebas después de la vacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

Nº identif. Animal	Días (d) y respuestas (mm)					
	0d ↓	5d	90d	180d ↓	185d	290d(A/B)**
407		5*	1		0	1/0
408		2	0		0	0/0
409		0	4		0	5/0
413		1	2		0	4/0
418		1	0		0	3/0
425		2	5		0	4/0
457		0	4		0	0/0
477		0	0		0	3/1
479		3	0		0	4/1
644		2	0		0	0/0
648		0	0		0	7/4
660		0	4		0	2/0
667		0	4		0	4/4

↓: Aplicación de vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

\* : mm respuesta PPD bovino.

\*\*A/B: mm respuesta a PPD aviar/PPD bovino.

del grosor de la piel que variaron entre 1 y 5 mm. En la prueba cervical comparativa, estos animales presentaron una respuesta mayor al PPD aviar, por lo que fueron considerados reaccionantes no específicos y clasificados como negativos (2).

En ninguno de estos animales se detectaron anticuerpos anti-*M.bovis* mediante ELISA en la prueba efectuada con muestras de sueros antes de la vacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, ni con las muestras obtenidas posteriormente.

En el ELISA para IgG anti-*M.paratuberculosis* resultaron positivos 2 de los 35 bovinos (632 y 644), los cuales fueron negativos a las pruebas tuberculínicas y no presentaron anticuerpos detectables contra *M.bovis*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso, aplicada de acuerdo con las Normas del Plan Nacional de

Erradicación, no interfiere con la especificidad de la prueba tuberculínica ano-caudal, que fue la prueba oficial para el diagnóstico de infección tuberculosa, en el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en Argentina (11).

Cuando se empleó la prueba cervical simple, que posee una mayor sensibilidad que la prueba ano-caudal, pero también una menor especificidad (3,5,9), aparecieron algunas reacciones relativamente pequeñas, que no mantuvieron consistencia en sucesivas tuberculinizaciones. En la prueba comparativa se comprobó mayor respuesta al PPD aviar en esos animales, por lo que ellos fueron considerados reactores no específicos, y por lo tanto, clasificados como negativos.

Tampoco se manifestó aumento de anticuerpos IgG séricos anti-*M.bovis* después de las vacunaciones con vacuna con adyuvante oleoso,

lo que significa que la vacunación antiaftosa repetidamente aplicada no determinó una respuesta humoral inespecífica al antígeno PPD.

Se observó un 6% de reacciones positivas al ELISA anti-*M. paratuberculosis*. Este ensayo, y la prueba tuberculínica comparativa, son elementos útiles para determinar el posible origen de reacciones pequeñas al PPD bovino (0-5 mm), observadas en la prueba caudal, en animales de rodeos considerados libres de tuberculosis, después de haber aplicado la vacunación con vacuna antiaftosa con adyuvante oleoso.

Sin embargo, ninguna de estas pruebas poseen especificidad absoluta. Solo el aislamiento por cultivo, del agente etiológico confirmará con certeza el origen de la infección.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Establecimiento Campazú (Vicente Casares) y a su propietaria Sra. Zulema Ibarbia de Porcel por su colaboración, que hizo posible este trabajo.

## REFERENCIAS

1. ALLISON, A.C., BYARS, N.E., WATERS, R.V. Immunologic adjuvants efficacy and safety consideration. In: *Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984. pp. 91-103.
2. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. *Commission report to the Council on the application of plans to accelerate and intensify the eradication of brucellosis, tuberculosis and leukosis in cattle. Comm. 81/611*. Brussels, CEE, 1981.
3. FRANCIS, J., SEILER, R.J.J., WILKIE, I.W., O'BOYLE, D., LUMSDEN, M.J., FROST, M.J. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Vet. Rec.* 103:420-435, 1978.
4. KANTOR, I.N., MARCHEVSKY, N., LOMBARDO, R. Tuberculosis response related to the administration of foot and mouth disease, brucellosis and rabies vaccines. *Br. Vet. J.* 136:98-100, 1980.
5. KANTOR, I.N., ODEÓN, A.C., STEFFAN, P.E., AUZA, M.J., MADRID, C.R., MARCHEVSKY, N. Sensitivity of the cervical and the caudal fold tests with *M. bovis* in infected cattle in Argentina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 3:137-150, 1984.
6. Mc KERDER, P.D. Oil adjuvants: their use in veterinary biologics. In: *Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984. pp. 15-119.
7. NADER, A., LÓPEZ, B., LÁZARO, L., ERRICO, F., RITACCO, V., GROTTER, C.G., KANTOR, I.N. The administration of foot and mouth disease vaccine with oil adjuvant and its influence on the diagnosis of bovine tuberculosis. *Rev. sci. Off. int. Epiz.*, 11:791-796, 1992.
8. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. *Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines*, Paris, OIE, 1992. pp. 223-224.
9. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Plan de acción para la erradicación de la tuberculosis bovina en las Américas. Washington, D.C., OPS/OMS, 1992. Doc/Tub/113/92.
10. RITACCO, V., LÓPEZ, B., BARRERA, L., NADER, A., FLIESS, E., KANTOR, I.N. Further evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Int. J. Vet. Med. B*, 37:19-21, 1990.
11. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD ANIMAL. *Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina*, Buenos Aires, Argentina, SENASA, 1994.

## ABSTRACT

### FOOT-AND-MOUTH DISEASE OIL-ADJUVANT VACCINE AND ITS POSSIBLE ROLE IN THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS IN CATTLE

The possible influence of a foot-and-mouth disease (FMD) oil-adjuvant vaccine administered according to the National Eradication Programme - on diagnostic tests results for tuberculosis in bovines. Forty animals from a tuberculosis free herd were included in the study. Two vaccinations were

applied with a six months interval. Intradermal PPD tests were performed and serum samples collected at the start of the study, at five days and 90 days after vaccination with FMD oil-adjuvant vaccine. Humoral response was determined by the level of serum-*Mycobacterium bovis* IgG antibodies in an enzyme immunoassay (ELISA). According to results obtained a repeated vaccination with FMD oil-adjuvant vaccine had no apparent influence on the specificity of tuberculin responses nor did it influence the level of anti-*M.bovis* antibodies in cattle. Additionally, the presence of anti-*M.paratuberculosis* antibodies was investigated by ELISA. Positive results were obtained in 6% of tested animals.

## RESUMO

### A VACINA ANTIAFTOSA COM ADJUVANTE OLEOSO E SUA POSSÍVEL INFLUÊNCIA NO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE EM BOVINOS

Investigou-se a possível influência da vacina contra a febre aftosa (FA) –aplicada de acordo com o Plano Nacional de Erradicação- sobre a resposta à tuberculina PPD, e sobre o nível de anticorpos séricos anti-*Mycobacterium bovis* determinado por um ensaio imunoenzimático (ELISA). Foram incluídos 40 bovinos

de um estabelecimento oficialmente livre de tuberculose. Realizaram-se duas vacinações com seis meses de intervalo, provas tuberculínicas e sangrias para ELISA. As sangrias realizaram-se ao início do estudo, aos cinco dias e aos 90 dias depois de cada vacinação. Os resultados obtidos em ambas provas diagnósticas de tuberculose, antes e depois de duas vacinações com vacina com adjuvante oleoso, não indicaram interferência dessa vacina sobre a especificidade das respostas tuberculínicas ou dos níveis de anticorpos anti-*M.bovis*. Analizou-se também a presença de anticorpos anti-*M.paratuberculosis* por ELISA, encontrando-se resultados positivos em 6% dos animais.