

### **3.2. VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LA VACUNA *B. melitensis* Rev 1 PARA LA PROFILAXIS DE LA BRUCELOSIS OVINA Y CAPRINA**

J.M. Blasco  
Unidad de Sanidad Animal  
Servicio de Investigación Agraria (SIA), Diputación General de Aragón (DGA)  
Ap 727. 50080 Zaragoza, España

## **INTRODUCCIÓN**

La vacuna ideal para la profilaxis de la brucelosis en los rumiantes debería poseer una serie de características, entre las que destacaría por encima de cualquier otra la capacidad para inducir una inmunidad sólida y duradera. Esta cualidad no ha sido poseída por ninguna de las vacunas inactivadas clásicas (45/20, 53H38, etc), mientras que es una propiedad característica de las buenas vacunas vivas (Plommet 1984, 1990). Si bien es cierto que cada vez están siendo mejor conocidos y caracterizados los antígenos de *Brucella* que intervienen en la protección y que se están desarrollando adyuvantes de nueva generación (Dubray 1997), hasta el momento presente no se ha desarrollado ninguna vacuna inactivada o subcelular que posea una eficacia igual o superior a la de las vacunas clásicas Rev 1 y B19. Por lo tanto, hasta que no sea desarrollada y valorada suficientemente una vacuna subcelular que presente, al menos, una eficacia igual a la de las vacunas vivas clásicas, tan sólo el uso de estas últimas debería ser considerado para la profilaxis colectiva de la brucelosis de los rumiantes.

Además de ser un producto vivo, la vacuna ideal debería reunir otra serie de condiciones tales como: i) eficacia protectora adecuada frente a las diferentes especies de *Brucella* involucradas en el ciclo epidemiológico, ii) inocuidad y ausencia de efectos secundarios con la posibilidad de ser usada en todas las especies animales, sexos y condiciones fisiológicas, iii) facilidad de aplicación (idealmente en una sola administración), iv) homogeneidad, estabilidad, bajo coste y facilidad de preparación, y v) su compatibilidad con la aplicación de programas de erradicación mediante diagnóstico y sacrificio.

Esta vacuna ideal todavía no ha sido encontrada pero disponemos de la vacuna Rev 1, que a nuestro juicio es la única herramienta bien conocida para la profilaxis colectiva de la brucelosis ovina y caprina.

## **VACUNA *B. melitensis* rev 1**

La vacunación de las cabras y borregas de reposición entre los tres y seis meses de edad con vacuna viva *B. melitensis* Rev 1 es una técnica de reconocida eficacia para la profilaxis de la infección por *B. melitensis* en ganado ovino y caprino (Alton y Elberg 1967; Elberg 1981). Además, esta vacuna puede ser utilizada también en ovejas y cabras adultas para controlar de la enfermedad en aquellos países con prevalencia elevada y escasos recursos (Blasco 1995, 1997).

Como contrapartida, la vacuna Rev 1 presenta algunos inconvenientes y aspectos controvertidos, algunos de los cuales han servido de base para generar la actual tendencia internacional que recomienda su abandono en favor de la prohibición de la vacunación o del uso de otras vacunas de nueva generación, cuyas ventajas potenciales resultan evidentes pero cuya eficacia para la profilaxis colectiva de la brucelosis ovina y caprina es desconocida en la práctica. Sin embargo, mucha de la controversia generada en la vacunación con Rev 1 podría ser explicada y, tomando las precauciones técnicas adecuadas, muchos de los inconvenientes atribuidos a esta vacuna podrían minimizarse. Los aspectos más controvertidos de esta vacuna serán discutidos a continuación:

### **a) Inocuidad. Los efectos secundarios**

El modelo utilizado y la calidad de las condiciones experimentales usadas para evaluar la inocuidad (seguridad) de las vacunas, es de importancia crucial para poder extraer conclusiones válidas. Para estudios de inocuidad, el uso de vacunas bien estandarizadas (de acuerdo con normas internacionales) y a dosis precisas, la realización de un seguimiento temporal suficiente (3-4 meses con intervalos semanales de muestreo) desde el punto de vista clínico (inducción de fiebre, abortos, lesiones genitales, etc) y bacteriológico (excreción vaginal, excreción en leche, etc), usando medios de cultivo estandarizados y controlados, son imprescindibles para poder obtener resultados consistentes y fiables. Desafortunadamente, no todas las referencias bibliográficas relativas a ensayos de vacunación contra la brucelosis se sustentan en este tipo de experimentos realizados en condiciones bien controladas, hecho que ha conducido a generar demasiadas controversias y malentendidos. Un ejemplo claro lo constituye la inducción de abortos por las denominadas "dosis reducidas" de vacuna Rev 1, cuando se utilizan en animales gestantes. Numerosas publicaciones basadas en pruebas de campo, y realizadas con condiciones experimentales muy poco precisas, han perpetuado históricamente el error de que la vacuna Rev 1, administrada subcutáneamente en dosis reducidas ( $10^4$  a  $10^6$  UFC), es inocua en ovejas y cabras en cualquier estado de gestación (Blasco 1995, 1997). Sin embargo, cuando la vacuna usada, las condiciones experimentales y el subsiguiente seguimiento temporal se controlan con precisión, se ha demostrado con suficiente claridad la gran capacidad de esta vacuna, incluso administrada a dosis bajas, para inducir abortos en ovejas y cabras vacunadas durante la gestación (Blasco 1995, 1997).

Los efectos secundarios principales de la vacuna Rev 1 son el riesgo de transmisión accidental a la especie humana durante su manipulación (Blasco y Díaz 1993) y la inducción de abortos y excreción en leche cuando se vacunan animales gestantes (Alton y Elberg 1967; Elberg

1981; Blasco 1997). Desafortunadamente, hoy continúa siendo aceptado por muchos que la vacuna Rev 1, utilizada a dosis reducidas por vía subcutánea, es inocua en ovejas y cabras vacunadas durante la gestación. De acuerdo esta suposición, las dosis reducidas de Rev 1 ( $10^4$  a  $10^7$ ), aplicadas por vía subcutánea, se siguen empleando para la realización de campañas de vacunación en masa en varios países, sobre la hipótesis de su inocuidad y de la suposición que una reducción de la dosis de vacuna inoculada no afecta a la inmunidad conferida. Sin embargo, ambas hipótesis son falsas puesto que la vacunación indiscriminada de ovejas gestantes con dosis reducidas ( $10^4$  a  $10^7$ ) y, por supuesto, con dosis estándar ( $10^9$ ) de Rev 1, puede provocar una gran cantidad de abortos en campañas de vacunación masiva (Blasco 1995; Blasco 1997). Tanto en experimentos de campo como en condiciones controladas ha quedado demostrado que esta vacuna, independientemente de la vía de administración y dosis utilizada, es capaz de colonizar el útero de las ovejas y cabras gestantes, siendo excretada por la vagina y provocando una considerable proporción de abortos, cuya presentación parece depender de los siguientes factores (para una revisión ver Blasco 1997):

- *Período de gestación.* Cuando los animales se vacunan en el segundo o tercer mes de gestación se provoca un porcentaje de abortos significativamente superior al producido cuando los animales se vacunan en el último mes de gestación. El mayor número de abortos inducidos por la vacuna se produce entre las 4 y 8 semanas tras la vacunación, lo cual explica el menor porcentaje de abortos obtenido en los animales vacunados durante el último mes de gestación.

- *Vía de administración.* Independientemente del periodo de gestación en que se encuentren los animales, el porcentaje de abortos inducidos por Rev 1 es significativamente menor cuando las ovejas se vacunan por vía conjuntival (restricción mayoritaria del inoculo vacunal en los ganglios regionales - parotídeo, submaxilar y retrofaríngeo -) que cuando se vacunan por vía subcutánea (rápido paso de la cepa vacunal a la circulación sanguínea y amplia diseminación orgánica con colonización inmediata de la placenta).

- *Vacuna utilizada.* Las propiedades biológicas de las vacunas S19 y Rev 1 pueden ser evaluadas muy eficientemente en un modelo murino (Bosserey *et al* 1984; Bosserey 1991), hoy en día aceptado internacionalmente para el control de calidad de estas vacunas (OIE, 1996). Cuando la vacuna Rev 1 producida por diferentes laboratorios europeos se evaluó en dicho modelo, se evidenciaron grandes diferencias de virulencia residual y de inmunogenicidad, especialmente cuando se comparaban con relación a la cepa de referencia internacional (Bosserey 1991). Existen evidencias claras de que estas diferencias de virulencia e inmunogenicidad en el modelo murino son extrapolables al ganado ovino y caprino en el campo (vacunas con una virulencia residual reducida en el modelo murino no inducían abortos en ovejas gestantes) y ponen en evidencia la falta de homogeneidad de las vacunas Rev 1 producidas por los diferentes laboratorios en todo el mundo. Esto podría explicar también las discrepancias en cuanto a inocuidad obtenidas en los diferentes ensayos de campo llevados a cabo en distintos países, y en particular, en lo que concierne a la inocuidad de las dosis reducidas.

b) La importancia de la estandarización de las vacunas

La gran mayoría de experimentos publicados tanto en experiencias de campo como en condiciones controladas demuestran que la vacuna Rev 1 posee una eficacia protectora excelente tanto frente a *B. melitensis* (Alton y Elberg 1967; Elberg 1981; Verger 1995) como *B. ovis* (Blasco 1990). Sin embargo, existen citas en las que se reportan fallos de protección de la vacuna Rev 1. Resulta evidente que para comparar los resultados de laboratorios distintos es indispensable que hayan sido realizados en condiciones similares y estrictamente controladas, lo cual es muy difícil de encontrar en la literatura. Uno de los aspectos esenciales a discutir reside en la extendida creencia de que la vacuna Rev 1 es un producto invariable de país a país y de laboratorio a laboratorio, ignorándose que pueden existir grandes variaciones en su actividad biológica en función de las diferentes condiciones usadas en su producción y conservación (Bossery *et al* 1984; Bossery 1991). Por ello, la estandarización y determinación de la adecuada actividad biológica de las vacunas S19 y Rev 1 de acuerdo a las normas internacionales (OIE 1996 ; ver punto 5 de la Agenda de esta reunión), constituye uno de los pilares esenciales y olvidados con demasiada frecuencia, tanto para la realización de experimentos de protección adecuados metodológicamente como para la ejecución correcta de cualquier campaña de profilaxis vacunal en un determinado país.

c) Las interferencias diagnósticas: las pruebas diagnósticas, la vacunación con dosis reducidas y el método de vacunación conjuntival

La vacuna Rev 1, administrada por el método clásico (vía subcutánea a dosis completas de  $1-2 \times 10^9$ ) produce una infección generalizada (multiplicación activa en los órganos linfoides y ganglios linfáticos) en los animales vacunados, originando una intensa y duradera respuesta serológica frente a los antígenos de superficie (principalmente el lipopolisacárido -LPS- y su polisacárido -O/PS-[Díaz *et al* 1968]), que interfiere con los programas de diagnóstico ulterior basados en pruebas serológicas que utilizan LPS u O/PS como antígeno (Fensterbank *et al* 1982; MacMillan 1990). Si bien este inconveniente es importante en aquellas situaciones epidemiológicas o económicas en las que un programa de erradicación por diagnóstico y sacrificio puede ser aplicado, es absolutamente irrelevante en situaciones epidemiológicas o socioeconómicas desfavorables. Es por ello sorprendente que muchos países en esta situación, y por tanto incapaces de ejecutar un programa de erradicación mediante diagnóstico y sacrificio, basen el abandono de la vacunación con Rev 1 en el potencial inconveniente de las interferencias serológicas.

Este inconveniente, causa principal de una creciente tendencia internacional en contra de la vacuna Rev 1, debe ser contemplado como muy relativo ya que existen diferentes posibilidades técnicas para minimizar la respuesta serológica inducida y hacer compatibles la vacunación con Rev 1 con la erradicación mediante diagnóstico y sacrificio. Una de las vías para la interpretación correcta de los resultados serológicos tras la vacunación reside en la utilización de pruebas diagnósticas capaces de diferenciar los anticuerpos vacunales de aquellos originados por la infección. Si bien este aspecto no está ni mucho menos resuelto, el uso de pruebas de diagnósticos sensibles a la afinidad de los anticuerpos, como son la precipitación en gel (doble difusión e

inmunodifusión radial) con hapteno nativo, podrían contribuir de forma importante a minimizar el problema de las interferencias serológicas postvacunales en ganado ovino (Marín *et al* 1999) y caprino (Díaz-Aparicio *et al* 1994).

Por otra parte, ha sido descrito que la reducción de la dosis inoculada (de  $5 \times 10^4$  a  $5 \times 10^6$  Rev 1) disminuye la duración e intensidad de la respuesta serológica sin repercutir negativamente en el grado de protección conferido. Sin embargo, la reducción de la dosis de Rev 1 no ha dado el resultado apetecido, puesto que si bien la intensidad de la respuesta serológica postvacunal disminuye (aunque no anula completamente el problema), también lo hace el grado de protección conferido y, posiblemente, también lo haga la duración efectiva de la inmunidad. De hecho, ha sido demostrado que dosis reducidas hasta aproximadamente  $10^6$  Rev 1 (bien en dosis única o incluso después de una revacunación), no confieren un adecuado nivel de protección frente *B. melitensis* en ganado ovino (Fensterbank *et al* 1982). Por otra parte, es conocido que estas dosis reducidas hasta aproximadamente  $10^6$  Rev 1 no son totalmente inocuas y pueden provocar abortos en cabras gestantes y, además, no inducen protección adecuada frente a dosis moderadas de *B. melitensis* en ganado caprino (Alton 1970). En consecuencia, la vacunación con dosis reducidas de Rev 1 no posee ningún soporte riguroso que avale su utilidad, por lo que su práctica debería ser totalmente erradicada de los programas de profilaxis colectiva de la brucelosis ovina y caprina y tan sólo las dosis estándar deberían ser recomendadas para la vacunación de los pequeños rumiantes tanto en animales jóvenes como en adultos.

Una de las técnicas más adecuadas para hacer compatible un programa de vacunación con Rev 1 con la erradicación mediante diagnóstico y sacrificio reside en la utilización de la vacunación conjuntival y del sentido común para evaluar la respuesta serológica inducida tras la misma. El procedimiento de vacunación conjuntival con Rev 1 (una sola dosis de  $1 \times 10^9$  UFC en un volumen de 30-50  $\mu$ l) confiere a las borregas y cabras de reposición una protección muy elevada (y similar a la conferida por la vacunación subcutánea estándar) frente a *B. melitensis* (Fensterbank *et al* 1982), induciendo una respuesta serológica de poca intensidad y corta duración (Fensterbank *et al* 1982; Marín *et al* 1999), haciendo de este método la herramienta de profilaxis ideal, ya que es totalmente compatible con un programa de erradicación por diagnóstico y sacrificio (Verger 1995). Sin embargo, cuando la vacunación con Rev 1 se realiza en animales adultos, la respuesta serológica es mas intensa y prolongada que en el caso de la vacunación de los animales de reposición, requiriéndose pruebas de diagnósticos específicos para interpretarla correctamente (Marín *et al* 1999).

En la aplicación práctica de la vacunación conjuntival existe un grave problema a nivel internacional que es la gran escasez de vacunas preparadas comercialmente para esta finalidad. Esto obliga en muchos casos a realizar operaciones de "bricolage" a partir de las vacunas preparadas para uso subcutáneo, lo que conduce a frecuentes errores y a la realización incorrecta de la vacunación. Las vacunas preparadas para uso conjuntival deberían contener una cantidad precisa de solvente y suministrarse con un dispensador sencillo y eficaz para que la dosis estándar de vacuna estuviese contenida en un volumen pequeño (25-30 microlitros) de producto dispensado. Idealmente, el solvente de la vacuna debería estar coloreado (por ejemplo, con Azul de Evans ya

que este colorante no afecta a la viabilidad de la cepa vacunal a concentraciones tan altas como 1 mg/ml) para facilitar la aplicación de la vacuna en el campo.

d) Las cuestiones sin resolver y pendientes de experimentación en la vacuna rev 1

- *e.1. La duración de la protección.* Una de las hipótesis más extendidas concerniente al uso de la vacuna Rev 1 es la aceptación de que induce una inmunidad que dura toda la vida del animal. En experimentos con varias deficiencias metodológicas se estableció que la duración de la inmunidad conferida por la vacunación clásica (dosis completas por vía subcutánea) con Rev 1 era superior a los 3 años en ovino y a los 4 en caprino (Alton 1990). Sin embargo, la experiencia práctica demuestra que la vacunación subcutánea con rev 1 no protege de por vida a las cabras ni a las ovejas en zonas endémicas con fuerte presión de infección. Con respecto a la vacunación conjuntival con rev 1, conocemos que la protección conferida en ovino es efectiva durante al menos dos gestaciones sucesivas, aunque la inmunidad parece disminuir con el tiempo (Verger *et al*, 1995).

En consecuencia, experimentos adicionales deberían ser llevados a cabo para determinar con precisión la duración de la inmunidad conferida por la vacuna Rev 1 y el interés y eficacia de las revacunaciones en función de las diferentes situaciones epidemiológicas. Mientras tanto, el aceptado dogma de la eficacia protectora de por vida de esta vacuna debería ser contemplado con bastante desconfianza, particularmente en aquellas zonas con elevada prevalencia de la enfermedad.

- *e.2. La inocuidad.* La vacuna Rev 1 no produce infecciones mamarias ni excreción en leche tras la vacunación subcutánea o conjuntival del ganado ovino lactante (Blasco 1997). Por otra parte se ha discutido mucho acerca de la inocuidad e interés de la vacunación de los machos ovinos con Rev 1. Tan sólo se ha descrito la existencia de un caso de epididimitis con aislamiento de rev 1 en un animal entre varios miles de carneros vacunados (Lantier y Fensterbank 1985). Nosotros no hemos observado alteraciones testiculares inducidas por la vacuna ni hemos conseguido aislarla del semen de varios machos ovinos, tanto jóvenes como adultos, vacunados con Rev 1 (Blasco 1990). Una de las ventajas del uso de la vacuna Rev 1 en machos ovinos, y que la hacen una práctica muy recomendable, es que, además de garantizarles una protección adecuada frente a *B. melitensis*, quedan perfectamente inmunizados frente a *B. ovis*, una especie que, pese a no transmitirse al hombre, causa importantes pérdidas económicas en ganado ovino (Blasco 1990).

Con respecto al ganado caprino, experimentos adicionales sobre inocuidad de la vacuna rev 1 deberían ser realizados tanto en cabras lactantes como en machos cabríos (particularmente en los adultos), en los que actualmente es muy poco conocida.