

VACUNAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA. II. ESTUDIOS SOBRE LA DURACION
DE LA INMUNIDAD EN BOVINOS Y PORCINOS

por el

Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island*

y el

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**

INTRODUCCION

En un trabajo publicado en este mismo número (1) se informa sobre un estudio realizado en colaboración entre el Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island (PIADC) y el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA). En ese estudio la respuesta inmunitaria a la vacunación y revacunación de bovinos, ovinos y porcinos inoculados con vacuna emulsificada con el adyuvante incompleto de Freund se comparó con la obtenida en animales inoculados con la vacuna convencional, inactivada con formaldehído y adicionada de hidróxido de aluminio-saponina.

En el presente estudio sólo se utilizaron vacunas de adyuvante oleoso. El objetivo fue comparar la respuesta de cerdos a vacunas preparadas por cada Centro a partir de una misma fuente de antígeno. Otra vacuna

emulsificada con adyuvante incompleto de Freund, preparada por PIADC se empleó para estudiar la duración de inmunidad de bovinos vacunados y revacunados.

MATERIALES Y METODOS

1. *Virus*

Fueron utilizados los mismos subtipos O₁, A₂₄ y C₃ de origen sudamericano, descritos en la publicación mencionada (1).

2. *Vacunas*

Cada Centro elaboró sus vacunas con las mismas semillas de virus, según el protocolo de producción descrito (1). El CPFA preparó una vacuna con antígenos más concentrados, para uso en cerdos; para tal efecto, una parte de los antígenos inactivados se concentró por precipitación con sulfato de amonio, se dializó contra 100 volú-

* P.D. McKercher; J.H. Graves; H. Cunliffe; J.J. Callis. ARS, USDA, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, New York 11944, U.S.A.

** P. Augé de Mello; I. Gomes; A. Alonso Fernández; M.V. Fernandes. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, O.P.S. - Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

"La mención de una marca registrada o de propiedad de un producto no constituye una certificación de garantía de ese producto por parte del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América ni implica su aprobación ni la exclusión de otros productos utilizables."

menes de 0,2 M NaCl, 0,05 M de buffer fosfato, a pH 7,4, agregándole después adyuvante oleoso. La vacuna elaborada en el PIADC se sometió a pruebas de inocuidad según se informó (2). Los títulos de infectiosidad y de fijación de complemento de los antígenos se ven en la Tabla 1.

3. Vacunación

Se vacunaron bovinos mestizos de cebú, de 1 a 3 años de edad, con un peso aproximado de 200 kg, con 6 ml de la vacuna del PIADC por vía subcutánea en la tabla del cuello. Cerdos Landrace, de 3 a 5 meses de edad, y 30 a 40 kg de peso, fueron vacunados con una dosis subcutánea de 6 ml, en la base de la oreja. La vacuna concentrada del CPFA se aplicó en el mismo lugar en una dosis de 2 ml.

4. Examen de anticuerpos

Mensualmente se obtuvieron muestras de sangre de los cerdos y de los bovinos para la investigación de anticuerpos séricos por la prueba de protección en ratones lactantes descrita (3). En los animales del PIADC se determinaron los valores de DP_{50} en ratones lactantes, según se informó (4), utilizando los tres tipos de virus.

5. Exposición al virus

A los cerdos se les inoculó $10^{4,6}$ DL_{50} ratón de uno de los tres subtipos, por vía intraplantar, en una pata. A los bovinos se les inoculó 10^4 DL_{50} ratón del subtipo O_1 por vía intradermolingual.

RESULTADOS

Las vacunas resultaron inócuas en pruebas realizadas en ratones lactantes o en bovinos. Los resultados de las pruebas de potencia de la vacuna del PIADC, realizadas en ese Centro, demostraron que 5, 4 y 5 de cada grupo de 6 novillos, estaban protegidos para los tipos O, A y C, respectivamente. Una prueba de potencia realizada en el PIADC con cerdos, 28 días después de la vacunación, reveló que de un grupo de 6

cerdos, los 6 estaban protegidos frente al virus de tipo O; cerdos vacunados con 6 ml de vacuna trivalente no fueron expuestos a los virus tipos A y C. Estos resultados y la media de los valores DP_{50} de estos animales, que se observan en la Tabla 2, indican que las vacunas eran de calidad aceptable.

Cerdos

En varios cerdos inoculados con las vacunas oleosas se observaron severas reacciones locales en el sitio de la inoculación a partir del 6º día, aproximadamente, de la vacunación. Las lesiones tenían de 5 a 15 cm de diámetro, y desarrollaron abscesos estériles o extensas ulceraciones. A este respecto, no se apreció diferencia entre las vacunas comunes y las concentradas.

La vacuna del PIADC indujo una buena inmunidad contra el subtipo A_{24} , reflejada en un alto grado de resistencia a la exposición al virus, uno y tres meses después de la vacunación (Tabla 3 y Fig. 1). A los 6 meses el nivel medio de los anticuerpos contra esta cepa de virus se mantenía alto, pero, sólo 4 de 14 cerdos resistieron a la inoculación del virus. Sin embargo, las lesiones de los animales vacunados eran mucho menos graves que las de los controles no vacunados, expuestos al mismo tiempo. Los resultados con los subtipos O_1 y C_3 fueron menos favorables, pero, asimismo, hubo una diferencia apreciable en la reacción clínica entre los cerdos vacunados y los controles sin vacunar.

El estudio de la respuesta inmunitaria a la vacuna del CPFA, y a la vacuna concentrada del CPFA, se dio por terminado tres meses después de la vacunación, debido al resultado más bien mediocre de los niveles de anticuerpos y a la descarga de virus (Tabla 3 y Fig. 1). Nuevamente el subtipo A_{24} produjo un estímulo mejor que los subtipos O_1 y C_3 .

Bovinos

En el sitio de inoculación de la vacuna sólo se observó una reacción tisular míni-

ma. En la Tabla 3 y en la Fig. 2 se presentan los resultados de la vacunación y revacunación de los bovinos con la vacuna del PIADC. Un mes después de la vacunación los niveles de anticuerpos estaban en un rango de protección ($ISP \geq 2$) y 13 de 16

bovinos no mostraron signos clínicos tras la descarga de virus del subtipo O₁. Los niveles de anticuerpos se mantuvieron estables, y el grado de protección era similar, a los 4 y a los 6 meses de la vacunación.

TABLA 1 - Pruebas de infecciosidad y de fijación de complemento de los virus usados para la producción de vacunas experimentales adicionadas de adyuvante incompleto de Freund

Subtipo	Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island		Centro Panamericano de Fiebre Aftosa		
	UFP ^{a)}	FC	Vacuna normal		Vacuna concentrada
			UFP ^{a)}	FC	FC
O ₁	N.D. ^{b)}	1/54	7,4	1/32	1/80
A ₂₄	N.D.	1/50	7,0	1/11	1/100
C ₃	N.D.	1/56	6,9	1/13	1/130

a) UFP = unidades formadoras de placas /ml.

b) N.D. = datos no disponibles.

TABLA 2 - Promedios de los puntos finales de las DP₅₀^{a)} de seis animales, por especies, en pruebas de potencia en el Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island

Tipo de virus	DPV ^{b)}	Bovinos	Cerdos
O ₁	28	1,87	1,33
A ₂₄	28	2,87	2,87
C ₃	28	2,34	2,13

a) DP₅₀ = log₁₀ de la recíproca de la dilución de suero que protege al 50% de los ratones contra 100 DL₅₀ de virus.

b) DPV = días postvacunación.

TABLA 3 - Animales protegidos en descargas de virus para pruebas de inmunidad, vacunados con vacunas de adyuvante oleoso

Especies	Meses		Virus de descarga	Centro de Enfermedades de Animales de Plum Island vacuna ^{a)}	Centro Panamericano de Fiebre Aftosa ^{a)}	
	1 ^a vacunación	Después de la revacunación			Vacuna normal	Vacuna concentrada
Cerdos	1		A ₂₄	10/12	7/12	3/8
	1		O ₁	4/12	3/12	0/8
	3		O ₁	1/12	0/11	-
	3		C ₃	2/12	0/11	0/7
	3,5		A ₂₄	7/8	-	0/8
	6		A ₂₄	4/14	-	-
Bovinos	1		O ₁	13/16	-	-
	4		O ₁	12/16	-	-
	6		O ₁	13/16	-	-
	12	6	O ₁	15/16	-	-
	18	12	O ₁	9/14	-	-

a) número de animales protegidos/número de animales probados.

- no realizado.

La revacunación produjo una marcada elevación de los niveles de anticuerpos, estableciéndose altas mesetas. Sólo alrededor de 6 meses después de la revacunación pudo observarse un ligero descenso del nivel de anticuerpos, pero, en ese momento estaban protegidos más del 90% de los bovinos (5). Al final del período de observación (18

meses) el número de bovinos que no desarrollaron enfermedad clínica tras la exposición al virus era menor que el indicado por el promedio de los resultados de la prueba de seroprotección en ratones. Sin embargo, individualmente, había una buena correlación entre los niveles de anticuerpos y la protección de los animales.

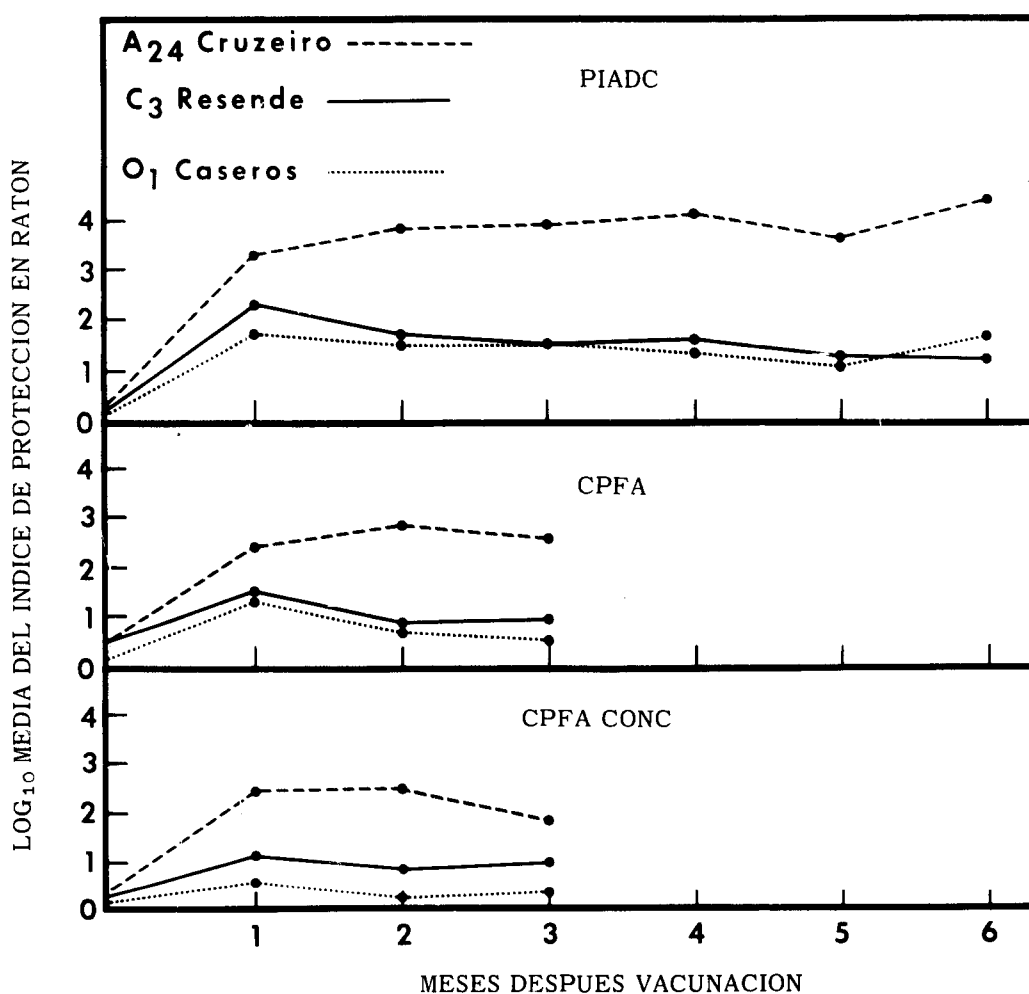


FIGURA 1 - Promedio de los índices de protección en cerdos vacunados con vacuna experimental trivalente contra la fiebre aftosa adicionada de adyuvante oleoso, preparada en el PIADC y en el CPFA.

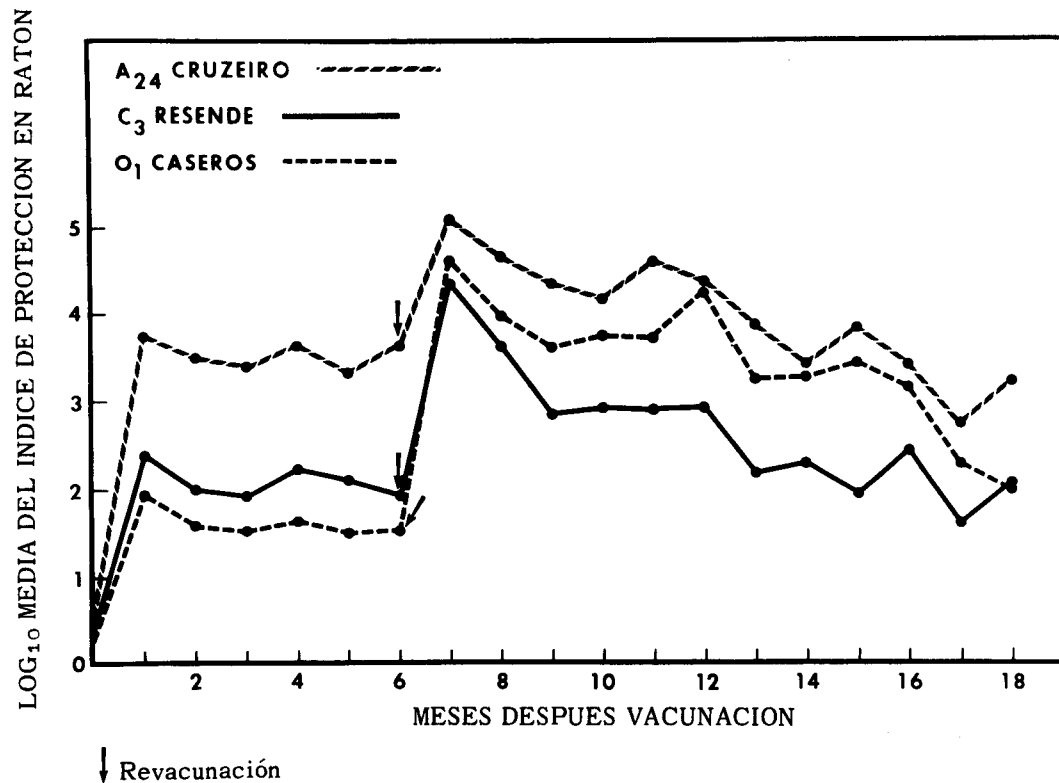


FIGURA 2 - Promedio de los índices de protección en bovinos vacunados con vacuna experimental trivalente con adyuvante oleoso y revacunados con una vacuna similar 6 meses después de la primera vacunación.

DISCUSION

Los títulos infecciosos del antígeno empleado para la elaboración de la presente vacuna eran semejantes a los del primer estudio (1), pero, los títulos superiores de FC indicaban una mayor masa antigénica. Los resultados de las pruebas de potencia también sugerían que estas vacunas deberían dar una mejor protección. En el CPFA se efectuó un estudio de respuesta en cerdos

según dosis con la vacuna de adyuvante oleoso, preparado en el PIADC, examinándose los sueros, para anticuerpos, en el CPFA. El análisis de los índices de seroprotección reveló una diferencia notable de anticuerpos entre los tres tipos. La respuesta al antígeno tipo A₂₄ fue significativamente mayor que la respuesta al antígeno O₁. Esto concuerda con los resultados obtenidos en las pruebas de potencia y con los que se presentan en la Tabla 3 y en las Figuras 1 y 2.

En los cerdos, la reacción tisular en el sitio de inoculación, fue un problema mayor que el esperado (6). Es posible que la piel blanca, relativamente delgada, de los cerdos Landrace y el volumen de la dosis de vacuna usada en estos experimentos, favoreciese el desarrollo de las reacciones inflamatorias. Será necesario considerar, en futuras experiencias, otros sitios de inoculación y una reducción en la dosis para resolver el problema de estas reacciones locales antes de poder recomendar la aplicación de este tipo de vacunas a los cerdos, en el campo. Sin embargo, parecería que hubiera sido posible aplicar una dosis menor, por que en los estudios sobre dosis hubo un aumento significativo de respuesta cuando la dosis de vacuna subió de 0,5 ml a 2,0 ml, pero la respuesta no aumentó significativamente cuando la dosis se elevó de 2,0 ml a 8,0 ml (PIADC). Por otro lado, experiencias recientes con una dosis total de 0,25 ml de antígeno purificado, según se discutió (7), parecen ayudar a resolver el problema de las reacciones locales. No fue posible establecer una correlación entre la presencia, ausencia o extensión de las reacciones locales y la respuesta inmunitaria, pero, en el CPFA se ha observado que los cobayos que desarrollan abscesos en el punto de inoculación de vacunas inactivadas adicionadas de saponina tienen una respuesta inmunitaria más pobre que los inoculados con la misma vacuna pero que no presentan esas reacciones (A.A. Fernández, comunicación personal). En los bovinos no hubo complicaciones después de la vacunación.

La respuesta inmunitaria y la protección de los cerdos fueron considerablemente mejores con la vacuna oleosa del PIADC en comparación con los resultados de los estudios cooperativos anteriores de ambos Centros (1). Las diferencias observadas entre las vacunas del PIADC y del CPFA se relacionan, posiblemente, con diferencias en las técnicas de emulsión o en la

cantidad de la masa antigénica, o en ambas. Sin embargo, la concentración del antígeno en la vacuna del CPFA no aumentó su potencia para los cerdos, lo que parece indicar que intervienen otros factores en el proceso de formulación, como la degradación del antígeno. Es interesante destacar, además, que las pruebas realizadas en cobayos en el PIADC demostraron que la vacuna del PIADC se mantuvo uniformemente estable durante los 8 meses de la prueba.

Los resultados de la vacunación de bovinos indican que con vacuna de adyuvante oleoso, inactivadas por AEI, se puede esperar una protección adecuada por un período de por lo menos 6 meses. Parece que es posible inducir una sólida inmunidad de la población, particularmente, cuando se vacuna en forma sistemática dos veces al año. La ampliación del intervalo, de cuatro para seis meses entre las vacunaciones, posiblemente reduciría en 1/3 el costo de las campañas de vacunación que se efectúan actualmente en América del Sur y por lo tanto, una experiencia de campo en gran escala con vacunas de adyuvante oleoso estaría bien justificada.

RESUMEN

En los cerdos, la vacuna produce una buena inmunidad contra el virus aftoso de tipo A₂₄, según se deduce de la resistencia a la exposición al virus efectuada al mes y a los tres meses de la vacunación. A los 6 meses, la media de los niveles de anticuerpos contra esta cepa se mantuvo alta pero sólo 4 de los 14 cerdos resistieron a la exposición. No obstante, las lesiones que presentaron los cerdos vacunados fueron mucho menos severas que las que mostraron los cerdos controles expuestos al virus en el mismo tiempo. La respuesta para la cepa A₂₄ fue mejor que para el O₁ y el C₃.

Los resultados de la vacunación en bovinos mostraron que con las vacunas inactivadas con AEI y adicionadas de adyuvante oleoso se puede esperar una adecuada protección durante un período no menor de 6 meses. Un mes después de la vacunación, 13 de 16 bovinos no presentaron signos clínicos de la enfermedad después de haber sido expuestos al virus O₁. Los niveles de anticuerpos permanecieron estables y la protección a los 4 y 6 meses de la vacuna-

ción fue semejante. La revacunación estimuló los niveles de anticuerpos y los bovinos protegidos llegaron al 90% a los 6 meses. La reacción de los tejidos en el sitio de inoculación de la vacuna fue mínima.

Sin embargo, en varios cerdos las vacunas oleosas causaron severas reacciones locales en el sitio de la inoculación que comenzaron a hacerse evidentes alrededor del 6º día después de la vacunación.

REFERENCIAS

1. PLUM ISLAND ANIMAL DISEASE CENTER; PAN AMERICAN FOOT-AND-MOUTH DISEASE CENTER.
Foot-and-mouth-disease vaccines. I. Comparison of vaccines prepared from virus inactivated with formalin and adsorbed on aluminum hydroxide gel with saponin and virus inactivated with acetyleneimine and emulsified with incomplete Freund's adjuvant. *Bltm Centro Panamericano de Fiebre Aftosa*, esta edición.
2. MCKERCHER, P.D.; GIORDANO, A.R.
Foot-and-mouth disease in swine. I. The immune response of swine to chemically-treated and non-treated foot-and-mouth disease virus. Report of the Meeting of the Research Group of the Standing Technical Committee, European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, held in Pirbright, England, September 14-16, 1970-186, 1966.
3. 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.* 19: 243-267, 1957.
4. CUNLIFFE, H.R.; GRAVES, J.H.
Formalin-treated foot-and-mouth disease virus: comparison of two adjuvants in cattle. *Can. J. comp. Med. vet. Sci.* 27: 193-196, 1963.
5. CALLIS, J.J.; MCKERCHER, P.D.; GRAVES, J.H.; FERNANDES, M.V.
Foot-and-mouth disease virus-immunization. Proceedings XIX Congreso Mundial de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Vol. 3, 1971.
6. MCKERCHER, P.D.; GAILIUNAS, P.
Response of swine to inactivated foot-and-mouth disease vaccine. Duration of immunity and local tissue reaction. *Arch. ges. Virusforsch.* 28: (2): 165-176, 1969.
7. BACHRACH, H.L.; MCKERCHER, P.D.
Immunology of foot-and-mouth disease in swine: Experimental inactivated virus vaccines. *JAVMA* 160: 521-526, 1972.