

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA VACUNA CEPA FLURY, CONTRA LA RABIA PARALITICA BOVINA

M.V.Z.,M.S. Carlos Arellano S. 1/
Dr. Fierre Sureau 1/
M.V.Z. Diódoro Batalla C. 1/
M.V.Z. José Morales 1/

Resumen

Con el objeto de evaluar la eficacia de la vacuna cepa Flury HEP contra una cepa patógena de Rabia Paralítica de origen vampiro; se hace una confrontación en 5 grupos de 7 bovinos cada uno, vacunados 335 días antes con 4 vacunas comerciales Flury HEP, 1 vacuna de referencia de cultivos celulares; dejando 1 grupo más de 9 bovinos no vacunados como controles. Queda plenamente demostrado, que las 4 vacunas comerciales probadas son ineficaces para proteger al ganado contra la rabia paralítica ya que ninguna protegió el 80% de los bovinos vacunados como se exigía, variando dicha protección entre el 70 y 28%, mientras que la vacuna de referencia protegió al 100% de los animales; al quedar demostrada la ineficacia, del biológico en cuestión, se hacen recomendaciones para que sea sacado del mercado.

La adaptación del virus rábico a pollos, fue notificada por Bernkopf y Kigler (1940) y por Dawson (1941), quienes encontraron que después del pase a través de pollos, el virus pierde patogenicidad para el conejo. Por la misma época, Johnson y Leach (1940), aislaron una cepa del cerebro de una niña llamada Flury, quien murió de rabia; inocularon pollos de un día de edad por vía intracerebral con una suspensión del cerebro y observaron los primeros síntomas de parálisis 30 días después de la inoculación mediante 136 pases; el virus fue fijado en pollos de un día, acortando el período de incubación

a 6 días, observando que la patogenia aumentaba para los pollos a medida que ésta disminuía para el conejo, el cuyo y el ratón. Esta cepa adaptada al pollo, fue proporcionada por Johnson a Koprowski y Cox (1948), quienes después de una serie de pases la adaptaron al embrión de pollo y desarrollaron dos tipos de vacuna, la de bajo pasaje (LEP) con un máximo de 185 pases en embrión de pollo y la de alto pasaje (HEP), con más de 185 pases. Mediante una serie de trabajos (Koprowski y Cox 1948; Schoroeder et al., 1952 y Carneiro et al., 1955), se demostró que las nuevas vacunas son incapaces de producir la enfermedad en animales inoculados por vía parental, aunque produce la rabia cuando es inoculada por vía subdural pero no se recobra el virus de las glándulas salivales ni de la saliva de los animales muertos; más tarde los trabajos de Carneiro, Black y Koprowski (1955), realizados en Colombia, demuestran que debe utilizarse la vacuna de alto pasaje (HEP) para inmunizar bovinos ya que la de bajo pasaje (LEP), les puede producir la enfermedad (Starr 1959; Da Silva y Dos Passos 1966).

Recibido para su publicación el 25 de enero de 1972.

1/ Proyecto de Investigación sobre Rabia Paralítica, programa cooperativo de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG., Km. 15 1/2 Carretera México-Toluca, Palo Alto, D.F.

En 1957, Camargo y Aurora Velázquez mediante diversos trabajos, demuestran en México la efectividad inmunizante de la vacuna Cepa Flury contra una cepa patógena de virus rábico aislada de vampiro (Cepa Elota II) y por sus ventajas de producción se decide elaborar y utilizar esta vacuna en México. En 1960, el Comité de Expertos en Rabia de la Organización Mundial de la Salud, recomienda la revacunación en bovinos con cepa Flury a los 30 días y dice que, "aunque una dosis de esta vacuna da una respuesta adecuada de anticuerpos en un número suficiente de animales, la segunda dosis a los 30 días después, puede resultar en una acción de refuerzo y proporcionar una protección más completa".

A mediados de la década de los sesentas se empiezan a recibir informes de la falla e ineficacia de la vacuna Flury HEP en la prevención de la rabia paralítica bovina; en Venezuela Palacios y Dumith (1964) encontraron que al usar la vacuna de alto pasaje cepa Flury, aunque los bovinos fueron vacunados dos veces, en ocasiones los animales seguían muriendo. Mancisidor (1965) informa en México la ineficacia de las vacunas Flury HEP, para proteger al ganado contra un brote ocurrido en el Municipio de Acatlán de Pérez Figueroa, Oax., viéndose en la necesidad de utilizar una autovacuna fenolizada para detener el brote. En esa misma época Baer, Rivera y Mancisidor (1965), demuestran que 6 meses después de la vacunación con cepa Flury, ninguno de los bovinos vacunados con una sola dosis tienen anticuerpos detectables con la prueba de sueroneutralización. En 1966, Correa y Solana probaron 9 vacunas cepa Flury HEP, mediante la prueba de potencia en cuyos y solamente 1 de las 9 vacunas pasó la prueba. En 1971, Batalla, Arellano y Sureau observaron que utilizando cuatro diferentes vacunas comerciales Flury HEP, los títulos de anticuerpos producidos por éstas en bovinos son muy bajos o en ocasiones no son detectables

y desaparecen alrededor de los 6 meses después de la vacunación.

Unidos a estos informes negativos con respecto al biológico que nos ocupa, se recibían constantemente quejas del sector ganadero en relación a la ineficacia de la vacuna en cuestión. Con el objeto de eliminar cualquier duda acerca de la eficacia de la vacuna Flury HEP, se decidió realizar el presente estudio el cual tiene por objeto conocer, en primer término, si este biológico protege al ganado por 12 meses, tal como los especifican los laboratorios productores y en caso de que proteja, encontrar el título mínimo de virus en la vacuna para que ésta produzca inmunidad.

Material y métodos

Virus de confrontación.- Cepa V. 319 GS 11-IC, aislada de glándulas salivales de vampiro en el Municipio de Acatlán de Pérez Figueroa, Oax., la cual se aplicó por vía intramuscular en 2 inoculaciones de 2.5 ml cada uno en la tabla del cuello con una dosis global de 2,000,000 DLR₅₀ en 5/ml.

Vacunas.- Las cuatro vacunas Flury HEP, fueron obtenidas al azar de la producción existente en 4 laboratorios comerciales; previo a la vacunación, las vacunas fueron tituladas en ratones lactantes según la técnica recomendada por la OMS (1956), dando los siguientes títulos:

| | | |
|----------|-------------------|------------------------|
| Vacuna 1 | 10 ^{6.2} | DLR ₅₀ g/ml |
| 2 | 10 ^{5.1} | DLR ₅₀ /ml |
| 3 | 10 ^{4.7} | DLR ₅₀ /ml |
| 4 | 10 ^{3.2} | DLR ₅₀ /ml |

Vacuna de referencia.- Se utilizó una vacuna experimental elaborada con una cepa de virus rábico aislada de vampiro, cultivada en células BKH₂₁ e inactivada con Betapropiolactona.

Bovinos.- Se formaron 6 grupos de vaquillas Hereford obtenidas de una región libre de vampiros y no enzootica de rabia, a las cuales

se comprobó que estuvieran libres de anticuerpos antes de la vacunación (OMS, 1956). Cinco grupos de 7 animales cada uno fueron vacunados con las cuatro vacunas Flury KEP y la vacuna de referencia, dejando un grupo de 9 animales no vacunados como testigos.

Pruebas serológicas.- Con el objeto de evaluar la producción de anticuerpos neutralizantes producidos por este biológico, los bovinos vacunados fueron sangrados a los 0, 30, 90 y 180 días después de la vacunación, para realizar pruebas de sueroneutralización en ratones, según la técnica recomendada por la OMS (1956).

Confrontación.- Se realizó a los 335 días después de la vacunación del ganado, aplicando la misma dosis de virus descrita anteriormente en cada uno de los animales de los grupos vacunados y en los 9 controles no vacunados. El criterio para considerar una vacuna como eficaz para proteger al ganado de la rabia paralítica era que por lo menos el 80% de los bovinos vacunados resistieran a la exposición.

Resultados

Los resultados de las pruebas serológicas y de confrontación se exponen en los cuadros 1 y 2.

Discusión

Los problemas observados en la producción de las vacunas antirrábicas elaboradas a partir de tejido nervioso de distintos animales (carnero, equino, etc), que existían antes del advenimiento de las vacunas elaboradas en embrión de pollo con la cepa Flury de alto y bajo pasaje hizo que varios investigadores recibieran estos biológicos con gran entusiasmo y se dedicaran a estudiar sus ventajas y posibilidades. Las investigaciones realizadas en relación a la eficacia de la cepa Flury HEP para la protección del ganado contra la Rabia Paralítica son relativamente limitadas, en relación al número de estudios realizados para evaluar las bondades de este biológico en la protección antirrábica para otras especies.

Según el criterio general la mejor forma de evaluar la protección conferida por una vacuna es inculcando al animal vacunado, el mismo germen contra el cual se supone está protegido; es reducido el número de trabajos de esta naturaleza que traten de evaluar, la eficacia de la cepa Flury HEP para la protección del ganado bovino contra la Rabia Paralítica y todos tienen ciertas limitaciones; los primeros en

Cuadro 1

Evaluación serológica en bovinos, de 4 vacunas antirrábicas cepa Flury HEP elaboradas en México

| | (1) Núm. de animales | | / | Animales con anticuerpos | |
|----------|----------------------|-----------|---|--------------------------|----------|
| | 0 días | 3 semanas | | 90 días | 180 días |
| Vacuna 1 | 7/0 ⁽¹⁾ | 7/2 | | 7/2 | 7/0 |
| Vacuna 2 | 7/0 | 7/3 | | 7/3 | 6/0 |
| Vacuna 3 | 7/0 | 7/2 | | 7/4 | 7/1 |
| Vacuna 4 | 7/0 | 7/1 | | 6/0 | 6/0 |

(1) Anticuerpos neutralizantes específicos de la rabia con un título mayor de 1:5.

intentar una prueba de confrontación en bovinos vacunados 5 meses antes, con vacuna cepa Flury HEP fueron Schroeder et al., (1952), los cuales demuestran que el biológico en cuestión, cuando se aplican 15 ml por vía intramuscular de una suspensión de embrión al 33.3%, solo protege al 75% de los animales vacunados (30 de 40) y el 50% (21 de 41) cuando se aplica por la misma ruta un volumen de 7-5 ml de vacuna; es importante mencionar que en la misma prueba el 100% de los bovinos controles no vacunados, murieron dentro de los 48 días después del desafío.

pero esta prueba solo puede demostrar la antigenicidad del biológico que nos ocupa y no la duración de la inmunidad, ya que el desafío de los animales se realizó 48 días después de la vacunación,

Los trabajos realizados por Camargo y Aurora Velázquez en 1957 marcan el inicio del uso de la vacuna Flury HEP en México; ellos también realizan una prueba de confrontación en la cual exponen con un virus patógeno de rabia de origen vampiro, un grupo de 5 animales vacunados 17 días antes por vía subcutánea con 10 ml de

Cuadro 2

Resultados de la confrontación realizada en condiciones experimentales, con virus rábico de campo, en bovinos vacunados 335 días antes, con 4 vacunas comerciales cepa Flury, HEP

| | Título de La vacuna (DLR ₅₀) | Resultados a los 180 días de la Confrontación ++ | | | |
|------------------------|--|--|-------|---------|-----------------|
| | | No. De animales utilizados | Vivos | Muertos | % de protección |
| Vacuna 1 | 10 ^{6.2} | 7 | 4 | 3 | 57 |
| Vacuna 2 | 10 ^{5.1} | 7 | 5 | 2 | 71 |
| Vacuna 3 | 10 ^{4.7} | 7 | 2 | 5 | 28 |
| Vacuna 4 | 10 ^{3.2} | 7 | 2 | 5 | 28 |
| Vacuna de referencia + | | 7 | 7 | 0 | 100 |
| Controles | | 9 | 3 | 6 | 33 |

+ Cepa Acatlán inactivada con betapropiolactona.

++ La cepa de confrontación tenía un título de 10^{6.3} DLR₅₀/ml.

Tres años más tarde, en 1955, Carneiro, Black y Koprowski intentan mediante la prueba de confrontación, probar la eficacia de la vacuna Flury HEP para proteger bovinos, observando un 84% de protección (5 de 6 bovinos sobrevivieron) con 6.0 ml de vacuna en suspensión al 33% aplicados por vía intramuscular;

vacuna al 33%, observando una protección del 80% (4 de 5) entre los vacunados, mientras que el 100% de los controles (2 de 2) morían de rabia.

De las investigaciones comentadas anteriormente se puede concluir que en el mejor de los casos se produce antigenicidad en el 84% de

los bovinos vacunados con Flury HEP (Carneiro, Black y Koprowski, 1955), aunque en los tres trabajos se utilizó siempre un mayor volumen de vacuna del. que actualmente se recomienda por los laboratorios productores; (5 ml de una suspensión al 33%) en ninguno de los tres trabajos se esclarece la duración de la inmunidad del biológico que nos ocupa.

En relación a los estudios serológicos realizados con los sueros provenientes de los animales vacunados con Flury HEP, la máxima respuesta inmunológica se observó a los 90 días después de la vacunación y aún en esa ocasión, se detectaron anticuerpos en solo el 60% de los animales inmunizados.

La muestra de suero tomada a los 180 días, indica que solo 1 suero de 26 mostraba anticuerpos detectables lo que demuestra el poco poder inmunogénico del biológico en cuestión. Este mismo fenómeno fue observado por Batalla, Arellano y Sureau (19/1) y es similar también a la respuesta serológica detectados por Carneiro, Black y Koprowski (1955).

De acuerdo con los resultados obtenidos de la confrontación o desafío, parece ser que no hay una relación directa entre la presencia de anticuerpos circulantes y la inmunidad existente en los animales vacunados, ya que hubo, varios animales que sobrevivieron al desafío sin presentar anticuerpos detectables a los 180 días de haber sido vacunados.

También por los resultados obtenidos de la confrontación realizada 11 meses después de aplicada la vacuna, se puede concluir que ninguno de los biológicos elaborados con la cepa Flury HEP en embrión de pollo utilizados, dio la protección del 80% exigida como requerimiento mínimo para considerar eficaz esta vacuna.

Considerando la existencia de

otros biológicos que han demostrado ser más eficaces para proteger los bovinos contra la Rabia Paralítica (Abelseth 1967; Sureau, Arellano y Batalla, 1971) se recomienda que la vacuna cepa Flury HEP elaborada en embrión de pollo sea retirada del mercado, para proteger así los intereses del ganadero.

Summary

In order to evaluate the efficacy of the Flury HEP vaccin against a pathogenic strain of rabies virus of vampire origin; 5 groups of 7 cows each one vaccinated 335 days before with 4 Flury HEP comercial vaccines, and 1 reference vaccine made in tissue culture together with 1 more group of 9 cows non-vaccinated uses as controls, were challenged.

Was fully demonstrated that the 4 comercial vaccines tested were useless to protect cattle against paralytic rabies due to the fact any of them protected the 80% of the vaccinated animals as it was required, giving protection between the 70 to 28% while the reference vaccine gave 100% protection; with this demonstration, recommendations were made in order to remove these product from the market.

Literatura citada

- Abelseth, M.K., 1967, Further Studies on the use of ERA rabies vaccine in domestical animals, *Can. Vet. Jour.*, 8,10:221-227.
- Baer, M.G., E. Rivera C, A. Mancisidor, 1965, Títulos de Sueroneutralización contra el derriengue producidos por una vacuna autógena, *Téc. Pec. en Méx.*, 6:11-15.
- Batalla, D., C, Arellano y P. Sureau, 1971, Evaluación serológica de las vacunas antirrábicas para bovinos que existen actualmente en México, *Téc. Pec. en Méx.*, 18:22-26.

- Bernkopf, H. and I.K. Kigler, 1940, Characteristics of Fixed Rabies virus cultivated on developing chick embryos, *Prof. Soc. Exp. Biol E Med.*, 45:332-335 .
- Camargo, N.F. y Aurora Velázquez, 1957, Desarrollo y producción en México de la vacuna avianizada para el control del Derriengue, *Bol. of San. Pan.*, 43: 251-259 .
- Carneiro, V., K. Black and H. Koprowski, 1955, Rabies in Cattle V. Immunization of Cattle in Brazil against exposure to Street virus of vampire bat origin, *J.A.V.M.A.*, 127:336-368.
- Correa, G.P. y P. Solana M., 1966, Potencia de vacunas contra derriengue adquiridas en farmacias veterinarias y en sus laboratorios de producción, *Téc. Pec. en Méx.*, 8:10-18.
- Da Silva R.A. y J.J. Dos Passos, 1966, Acidemte de Vacinacao anti-rábica como uso de vacina Flury (Virus de baxia passagem), em bovinos, *Pesc. Agropec. Bras.*, 1:55-63.
- Dawson, J.R. Jr., 1941, A study of chick embryo adapted rabies virus, *Am. Jour. Pathe.*, 17:177-188.
- Johnson, H.N. and C.N. Leach, 1940, Rabies Vaccine Modified Virus avianized is produced in chick embryos from the Flury strain of Rabies virus isolated by Leach and Johnson, *Am. Jour. Trop. Med.*, 20:335.
- Koprowski, H. and H.R. Cox, 1948, Studies on Chick embryo adapted Rabies virus: 1 Culture Characteristics and Pathogenicity, *Jour. Immunol.*, 60:553-554.
- Mancisidor, A.A., 1965, El uso de una vacuna autógena en el control de un brote de derriengue en México, *Téc. Pec. en Méx.*, 5:27-29 .
- Organización Mundial de la Salud, 1956, Técnicas de laboratorio aplicadas a la rabia, Monografía No. 23.
- Palacios, G. y G. Dumith, 1964, Problemas de la rabia paralítica III Reunión Nacional sobre la situación de la rabia en Venezuela.
- Schoroeder, C.R.J. Black, R.L. Burkhart and H. Koprowski, 1952, Rabies in cattle I prevention on vampire paralytic rabies, Derriengue, by vaccination with chick embryo-adapted rabies virus, *Vet. Me.*, 47:502-506.
- Starr, L.E. 1959, Rabies Prophylaxis in cattle, *J.A.V.M. A.*, 134:78-81.
- Sureau, P., C. Arellano y D. Batalla, 1971, Evaluación de la eficacia de la vacuna antirrábica cepa "ERA" en bovinos II. Duración de Inmunidad., *Téc. Pec. en Méx.*, 18:16-21.
- World Health Organization, 1960, Expert Committe on Rabies Fourth report, Technical report series No. 201.