

Títulos de sueroneutralización contra el derriengue producidos por una vacuna de alto pasaje y por una vacuna autógena

GEORGE M. BAER, D.V.M., M.P.H.¹
EDUARDO RIVERA CRUZ, M.V.Z., M.S.²
AUGUSTO MANCISIDOR AHUJA, M.V.Z.^{2, 3}

(Recibido para publicación el 17 de noviembre de 1965)

Uno de los problemas más graves con que se enfrenta la ganadería en México, es la rabia transmitida por vampiros, o derriengue, tanto por la antigüedad de su aparición, Camargo N., *et. al.* (1951) como por la enorme cuantía de las pérdidas que ocasiona (Téllez Girón, 1937 y 1944).

Durante el período de 1939 a 1943, se calculó en 10,000 el número anual de casos de derriengue ocurridos en México (Johnson, 1948). Málaga-Alba (1959), calcula que hay en México 90,000 casos de derriengue por año. En un artículo reciente, Valdés Ornelas y Atristain Aranalde (1964), se estima que las pérdidas ascienden a 100,000 cabezas de ganado bovino y 10,000 equinos por año. En Acallan de Pérez Figueroa, municipio de Oaxaca, de los 8,000 bovinos que originalmente existían en la zona, murieron 2,000 en tres años (Mancisidor Ahuja, 1965). En esta epizootia se emplearon casi todas las vacunas contra el derriengue existentes en el mercado, sin conseguir con esto proteger satisfactoriamente a los animales vacunados, lo cual se logró con una vacuna autógena tipo Fermi.

En México se cuenta en la actualidad con dos tipos de vacunas comerciales para proteger al ganado del derriengue: la vacuna de

virus vivo de alto pasaje (HEP) cepa Flury, adaptada al embrión de pollo y las de virus inactivado; sin embargo y por motivos seguramente muy diversos, se ha visto en condiciones de campo, fallar a ambas o prestar solamente una inmunidad muy corta.

Esta experiencia se realizó con objeto de determinar la capacidad antigénica contra el derriengue, de una vacuna de virus vivo cepa Flury y de una vacuna inactivada tipo Fermi.

Materiales y métodos

La experimentación se llevó a cabo en el rancho Oluta, a 40 kilómetros del puerto de Veracruz. Se utilizaron 40 bovinos Cebú hembras, de 15 a 20 meses de edad, con un peso aproximado de 400 kg. cada uno y con características fenotípicas muy semejantes. Estos animales no habían sido vacunados antes contra el derriengue. Se probaron dos vacunas:

a) Vacuna contra el derriengue, elaborada 8½ meses antes, de acuerdo con el procedimiento de la Organización Mundial de la-Salud (OMS 1956) con la cepa Flury adaptada al embrión de pollo (HEP), faltándole-3½ meses para su fecha de expiración.

b) Vacuna contra el derriengue inactivada, de acuerdo con la técnica de Fermi ligeramente modificada y elaborada, con sistema nervioso central y médula espinal de animales muertos de derriengue, pocos días antes

1 Communicable Disease Center. Southwest Rabies Investigations Station. University Park, New México, U.S.A.

2 Departamento de Patología Animal. Centro Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G. Palo Alto, D, F.

3 Dirección actual: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. Circunvalación y, Yáñez, Veracruz, Ver.

de iniciar el experimento (Mancisidor Ahuja 1965). El título del virus con que se elaboró la vacuna fue de $10^{3.69}$, en ratón adulto.

El ganado se dividió en cuatro grupos de 10 animales cada uno, identificándose a cada animal con un arete y un tatuaje. *Grupo No. 1.* Cada bovino recibió una dosis intramuscular de 5 c.c. de vacuna contra el derriengue cepa Flury (HEP), a una concentración de 33%. *Grupo No. 2.* Cada animal recibió una dosis intramuscular de 5 c.c. de vacuna contra el derriengue cepa Flury (HEP), el mismo día que el grupo 1 y oírá dosis, también de 5 c.c., un mes después. *Grupo No. 3.* Cada animal recibió una dosis de 20 c.c. (2 g de material nervioso) de vacuna autógena contra el derriengue, el mismo día que el grupo 1 y otra dosis igual un mes después. *Grupo No. 4.* Ninguno de los 10 animales fue vacunado,

El método empleado para probar la potencia de la vacuna de virus vivo fue el recomendado por la OMS (1956). No se hicieron pruebas de potencia de la vacuna inactivada. Los sueros sanguíneos se colectaron antes y uno, dos, tres y seis meses después de vacunar. La prueba de sueroneutralización se efectuó mezclando el suero sin diluir y en diluciones múltiplos de 5, con un volumen semejante de la suspensión del virus C.V.S. quedando a las concentraciones finales de 1:2, 1:5, 1:25, 1:125, etc. La concentración de C.V.S. fue aproximadamente de 32 DL_{50} para el ratón (entre 10 y 100). El título del suero se determinó por el método de Reed y Muench (1938).

El criterio para valorar el título de sueroneutralización fue el siguiente: < 1:2, ausencia de un título detectable de anticuerpos; 1:2 - 1:12, bajo nivel de anticuerpos; > 1:12, alto nivel de anticuerpos.

Resultados y discusión

La vacuna HEP pasó las pruebas de potencia en cuyes de 350 a 450 g y tuvo un título de $10^{5.3}$ en ratones lactantes de 4 a 7 días de edad.

Cuatro de los cuarenta bovinos empleados en este trabajo, revelaron en su suero sanguíneo presencia de anticuerpos contra la rabia, al realizar la primera sangría, motivo suficiente para descartarlos del experimento. Creemos que los anticuerpos encon-

trados en estas terneras, se debieron a que estuvieron expuestas al virus del derriengue al ser mordidas por vampiros. Las otras 36 terneras no mostraron anticuerpos antes de la vacunación.

Los títulos de sueroneutralización de las terneras en experimentación antes de la vacunación y uno, dos, tres y seis meses después de ella, se presentan en el Cuadro 1.

Es de notarse que por razones fuera del control de los autores, algunos de los sueros sanguíneos de los animales en experimentación no pudieron someterse a la prueba de sueroneutralización, especialmente aquellos tomados un mes después de aplicada la vacuna.

Pruebas de campo llevadas a cabo en otros países han mostrado que la vacuna HEP es capaz de conferir protección en bovinos, tanto por el nivel de anticuerpos producidos, como por la resistencia a la exposición, ante un virus que se aisló de vampiro (Carneiro *et. al.* 1955). En México se observó que esta vacuna produce una sólida inmunidad en bovinos contra una cepa de derriengue (Camargo N., *et. al.* 1957). Sabemos también, que aun en lugares donde se ha vacunado en forma aparentemente correcta, los casos de derriengue no desaparecen totalmente (Mancisidor, 1965; Palacios y Dumith, 1964). En Venezuela, se ha encontrado al usar la vacuna de alto pasaje cepa Flury que en ocasiones, aunque los bovinos sean vacunados 2 veces siguen muriendo, habiendo necesidad de aplicar vacuna tipo Semple para detener la mortalidad (Palacios y Dumith, 1964). En el presente experimento comprobamos que la vacuna HEP no confirió un título adecuado de anticuerpos, pues más del 60% (6 de 9) de las terneras vacunadas una sola vez, no mostraron anticuerpos 2 meses después de la vacunación, cifra muy baja si la comparamos con otras experiencias (Carneiro, *et. al.* 1955), en las que el total de 10 vacas inyectadas una vez con 3.0 c.c. de vacuna, la cual es una dosis menor a la que empleamos, sí mostraron anticuerpos en su suero sanguíneo. El Comité de Expertos en Rabia, de la Organización Mundial de la Salud (1960) 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 anima-

Cuadro 1. Resultados de las pruebas de sueroneutralización en bovinos vacunados con cepa Flury de alto pasaje y con vacuna autógena

Tipo de vacuna	Ternera No,	Antes de vacunar	Títulos de sueroneutralización			
			Un mes	Dos meses	Tres meses	Seis meses
Alto Pasaje (HEP) Vacunados una vez	3	< 1:2	--- ^a	< 1:2	1:5	---
	12	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	13	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	14	< 1:2	---	1:5	1:2	< 1:2
	15	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	16	< 1:2	1:8	1:4	1:3	< 1:2
	17	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	18	< 1:2	---	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	19	< 1:2	---	1:5	< 1:2	< 1:2
Alto Pasaje (HEP) Vacunados dos veces	4	< 1:2	---	1:6	1:6	< 1:2
	20	< 1:2	1:5	< 1:2	1:2	< 1:2
	21	< 1:2	< 1:2	1:6	1:8	< 1:2
	22	< 1:2	---	< 1:2	1:2	1:2
	23	< 1:2	---	1:3	1:2	1:2
	24	< 1:2	---	1:6	1:11	< 1:2
	25	< 1:2	---	1:9	< 1:2	< 1:2
	26	< 1:2	---	1:9	1:2	1:2
27	< 1:2	---	1:4	1:8	< 1:2	
Autógena Vacunados dos veces	6	< 1:2	< 1:2	1:3	< 1:2	< 1:2
	7	< 1:2	---	1:2	1:2	1:2
	8	< 1:2	< 1:2	1:200	1:16	1:2
	29	< 1:2	---	1:32	1:16	< 1:2
	31	< 1:2	1:6	1:48	1:9	> 1:2
	32	< 1:2	---	1:16	1:8	< 1:2
	33	< 1:2	---	1:32	1:16	< 1:2
	34	< 1:2	1:10	1:5	1:6	< 1:2
35	< 1:2	1:5	1:9	1:9	< 1:2	
Testigos Sin vacunar	9	< 1:2	----	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	10	< 1:2	---	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	11	< 1:2	< 1:2	---	---	< 1:2
	37	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	38	< 1:2	---	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	41	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	---
	42	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2	< 1:2
	43	< 1:2	---	< 1:2	< 1:2	< 1:2
44	< 1:2	---	---	< 1:2	< 1:2	

(a) No se examinó.

les, una segunda dosis a los 30 días después, puede resultar en una acción de refuerzo y proporcionar una protección más completa". En nuestro experimento, en las terneras vacunadas una vez con la vacuna HEP, el nivel de anticuerpos llegó solamente a 1:5; con una segunda dosis de vacuna, se obtuvo una mejor respuesta, pero el nivel de anticuerpos no pasó de 1:11.

Ocho de los nueve animales vacunados con la vacuna autógena respondieron con anticuerpos detectables, teniendo la mayoría, un título más alto al de las terneras vacunadas dos veces con la vacuna HEP. Es de señalarse que seis meses después de vacunados, casi ninguno de los animales de todo el experimento, ni aun aquellos vacunados dos veces, tenía anticuerpos detectables contra la rabia. No fue posible valorar la inmunidad de las terneras exponiéndolas al virus del derriengue y comparar ésta con el nivel de anticuerpos; al respecto, la literatura indica, Carneiro *et. al.* (1955), que en un grupo de terneras vacunadas con solamente 1.5 ml de vacuna HEP y que tenían un nivel de anticuerpos semejante al que observamos en nuestro experimento, todos los animales murieron, cuando se expusieron severamente a un virus de origen de vampiro.

Resumen

Se inyectaron 20 terneras con una vacuna de virus vivo, cepa Flury HEP contra el derriengue elaborada en embrión de pollo; diez de ellas con una sola dosis; las diez restantes, 2 dosis con un mes de intervalo. Otras diez terneras recibieron una vacuna tipo Fermi contra el derriengue, hecha con material nervioso de animales muertos de la enfermedad. Diez animales no se vacunaron.

Las pruebas de sueroneutralización efectuadas uno, tres y seis meses después de la vacunación, mostraron que una sola dosis de vacuna cepa Flury, estimula un muy bajo nivel de anticuerpos, el cual se mejora apreciablemente empleando dos dosis de vacuna. Los títulos de anticuerpos inducidos por la vacuna autógena superaron a los anteriores. Los animales sin vacunar no mostraron ningún título de sueroneutralización. Después de 6 meses de haber sido vacunados, en casi la totalidad de los animales, habían desaparecido los anticuerpos.

Agradecimiento

Los autores agradecen a los directivos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Veracruz, Ver., su cooperación durante el desarrollo de este trabajo. Asimismo agradecen a los señores Reyes García y Pedro Franco, el haber facilitado los animales para el experimento.

Literatura citada

- CAMARGO N. FERNANDO, AURORA VELÁZQUEZ E. 1957. Desarrollo y producción en México de la vacuna avianizada para el control del derriengue. Bol. Of. San. Panamer. Wash. 43:251-259.
- CAMARGO N. FERNANDO, MANUEL RAMÍREZ V. y AURORA VELÁZQUEZ. 1951. Historia del derriengue en México. Trabajo en mimeógrafo. Palo Alto, D. F.
- CARNEIRO V., J. 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. 127:366-364.
- JOHNSON, H. N. 1948. Derriengue: vampire bat rabies in México. Am. Jour. Hyg. 47: 189-204.
- MÁLAGA-ALBA, A. 1959. La rabia de los murciélagos como problema veterinario y de salud pública tropical. Cienc. Vets. 5:520-531.
- MANCISIDOR AHUJA, A. 1965. El uso de una vacuna autógena en el control de un brote de derriengue en México. Téc. Pec. Méx. 5:27-29.
- Organización Mundial de la Salud. 1956. Técnicas de laboratorio aplicadas a la rabia. Serie de monografías No. 23.
- PALACIOS, G. y G. DUMITH. 1964. Problemas de la rabia paralítica. III Reunión Nacional sobre la situación de la rabia en Venezuela.
- REED, L. J. and MUENCH, H. 1938. A simple method of estimating fifty per cent end points. Am. Jour. Hyg. 27:493-497.

- TÉLLEZ GIRÓN, A. 1937. Los murciélagos portadores del virus del derriengue (Encefalomyelitis bovina). Rev. Mex. Med. Vet. 5: 6-8.
- TÉLLEZ GIRÓN, A. 1944. El vampiro portador del virus del derriengue. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 5:35-42.
- VALDÉS ORNELAS, O. and ATRISTAIN ARANALDE, G. 1964. Bat Rabies in México. South. Vet. 1 (11):13-16.
- World Health Organization. 1960. Expert Committee on Rabies. Fourth report. Technical report. Series No. 201.

**TÍTULOS DE SUERONEUTRALIZACION
CONTRA EL DERRIENGUE PRODUCIDOS
POR UNA VACUNA DE ALTO PASAJE Y
POR UNA VACUNA AUTOGENA**

Se vacunaron tres grupos de terneras con una vacuna contra el Derriengue cepa Flury (HEP) y otra autógena tipo Fermi. Se colectó suero sanguíneo a diferentes intervalos y se hicieron pruebas de sueroneutralización. Hubo un título mayor de anticuerpos cuando se aplicó la vacuna autógena dos veces con un mes de intervalo, siguieron en orden descendente el de la cepa Flury aplicada en la misma forma y por último, esta misma vacuna aplicada una sola vez. Seis meses después de la vacunación, los títulos eran prácticamente nulos en los tres grupos.||

G. M. BABR, E. HIVERA C., y A. MANCISIDOR A. Communicable Disease Center, Southwest Rabies Investigations Station, University Park New México, U.S.A., y Departamento de Patología Animal. Centro Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G., Palo Alto, D. F. México.

Téc. Pec. en México. 6:11-15 (1965)

**TENEUR DES SERUMS DE NEUTRALISATION
CONTRE LA RAGE PRODUITE PAR
UN VACCIN ET PAR UN VACCIN
AUTOGENE**

Trois groupes de génisses furent vaccinés avec du vaccin antirrabique, souche Flury (HEP) et avec un autre, autogène type Fermi. Du sérum sanguin fut recueilli à différents intervalles et des preuves de sérum de neutralisation furent faites. On obtint une teneur supérieure d'anticorps lorsqu'on appliqua deux fois le vaccin autogène á un mois d'intervalle, suivit en ordre descendant, celui de la souche Flury appliqué de la même manière et, en dernier lieu, ce même vaccin appliqué une seule fois. Six mois après la vaccination, les teneurs étaient pratiquement nulles dans les trois groupes.

G. M. BAER, E. RIVERA C., y A. MANCISIDOR A. Communicable Disease Center, Southwest Rabies Investigations Station, University Park New México, U.S.A., y Departamento de Patología Animal. Centro Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G., Palo Alto, D. F. México.

Téc. Pec. en México. 6:11-156 (1965)

**SERUM NEUTRALIZATION TITRATION
AGAINST THE "DERRIENGUE" PRODUCED
BY A HIGH PASSAGE VACCINE AND
BY AN AUTOGENOUS VACCINE**

Three groups of heifers were vaccinated with a vaccine of the Flury strain (HEP) against "derriengue", and other autogenous type Fermi. Blood serum was collected at different intervals and tests of serum neutralization were made.

The highest titer of antibodies resulted when the autogenous vaccine was applied two times with a one-month interval. The Flury strain, applied in the same form, continued in descending order and the last one was this same vaccine (Flury) applied only one time. Six months after the vaccination the titers were practically absent in the three groups.

G. M. BAEER, E. RIVERA C., y A. MANCISIDOR A. Communicable Disease Center, Southwest Rabies Investigations Station, University Park New México, U.S.A., y Departamento de Patología Animal. Centro Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G., Palo Alto, D. F. México.

Téc. Pec. en México. 6 :11-15 (1965)

**SERUMNEUTRALISATIONSTITEL GEGEN
RINDERTOLLWUT, DIE DURCH EINEN
IMPESTOFF HOHER PASSAGEZAHL UND
EINEN AUTOGENEN IMPESTOFF PRO-
DUZIERT WORDEN SIND**

Drei Kuhkaelbergruppen wurden mit einem Impfstoff gegen Rindertollwut des Flurystammes (hohe Embryopassagenzahl) und mit einem anderen autogenen Impfstoff Typ Fermi geimpft. Blutserum wurde zu bestimmten Intervallen entnommen, und Serumneutralisationsproben wurden durchgefuehrt. Die hoechsten Antikoerpertitel wurden bei der zweimaligen Verwendung des autogenen Impfstoffes mit einem Monat Unterschied erzielt; in abfallender Groessenordnung folgte der Impfstoff des Flurystammes, in derselben Weise angewendet, und an letzter Stelle stand ebenfalls letztgenannter mit nur einer einzigen Inokulation. Sechs Monate nach der Impfung waren die Titel praktisch Null in allen drei Gruppen.

G. M. BAEK, E. RIVERA C., y A. MANCISIDOR A. Communicable Disease Center, Southwest Rabies Investigations Station, University Park New México, U.S.A., y Departamento de Patología Animal. Centro Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G., Palo Alto, D. F. México.

Téc. Pec. en México. 6:11-15 (1965)