

## AVANCES EN EL DESARROLLO DE UNA VACUNA ANTIRRABICA ELABORADA CON LA CEPA V-319 /ACATLAN INACTIVADA CON B-PROPIOLACTONA

JUAN RENTERIA FLORES<sup>1</sup>

JOSE E. WEIMERSHEIMER RUBI<sup>1</sup>

OCTAVIO HERNANDEZ BAUMGARTEN<sup>1</sup>

ELISEO HERNANDEZ BAUMGARTEN<sup>2</sup>

Las vacunas antirrábicas en su forma comercial son elaboradas a partir de diferentes cepas de virus, ya se atenuadas o inactivadas, (Hernández, 1976). Las inactivadas a diferencia de las atenuadas ofrecen un manejo más fácil y seguro a nivel de campo, por tener una mayor estabilidad a variaciones de temperatura (Cunha *et al.*, 1977). Por otra parte el tiempo y costo de producción se reduce en virtud de no requerir del proceso de liofilización (Petermann *et al.*, 1971), lo que permite aumentar la disponibilidad del biológico.

El objetivo de este trabajo es desarrollar y evaluar una vacuna de rabia inactivada, elaborada a partir de la cepa V-319/Acatlán usando como agente inactivante la B-propiolactona. Esta cepa fue desarrollada en el I.N.I.P. (Bijlenga y Hernández, 1976) y en su presentación original de virus vivo atenuado ha demostrado excelente capacidad antigénica para todas las

especies domésticas (Batalla, 1981; Sagardía, 1982; Pérez, 1981; González, 1982; Hernández 1976). Se eligió como agente inactivante la B-propiolactona en virtud de ser un producto que ha sido utilizado exitosamente en la elaboración de este tipo de vacunas por diferentes autores (Iarghi *et al.*, 1976). Para este trabajo se prepararon dos lotes de vacuna, V-319/Acatlán: uno con títulos en ratón lactante  $10^5$  DL.50%/ml y otro con  $10^4$  DL50/ml. Este último corresponde a la dosis mínima requerida como vacuna de virus vivo atenuado (Batalla *et al.*, 1981). Ambos lotes fueron inactivados con B-propiolactona a una concentración final de 1:4000 (Syvain, 1970), previamente titulada por el método descrito por el comité de expertos de la OMS (Lepine *et al.*, 1975). Con cada lote vacunal se prepararon 2 sublotes adicionando a uno como adyuvante el FAS-16 (sublotes 1 y 2) y al otro el adyuvante Willstaetter tipo C (sublotes 3 y 4). Para evaluar la antigenicidad en bovinos se seleccionaron 100 bovinos seronegativos a la prueba de seroneutralización en ratones vacunándose 20 con cada sublote y dejando 20 como testigos con lo

1 Departamento de Investigación en Producción, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.R.H., Km. 15.5 Carretera México-Toluca, Delegación Cuajimalpa C.P. 05110.

2 Profesor de Virología, ENEP-Cuautitlán, Edo. de Méx. Apdo. Núm. 25.

CUADRO 1

Tipo de vacunación por grupo	
Grupo 1	Vacunado con título $10^5$ D.L.50%/ml <sup>a</sup> y adyuvante FAS-16.
Grupo 2	Vacunado con título $10^6$ D.L.50%/ml <sup>b</sup> y adyuvante FAS-16.
Grupo 3	Vacunado con título $10^5$ D.L.50%/ml y adyuvante Willstaetter c.
Grupo 4	Vacunado con título $10^6$ D.L.50%/ml y adyuvante Willstaetter.
Grupo 5	Testigos no vacunados.

a 100,000 partículas virales/ml

b 1,000,000 partículas virales/ml

c tipo "c"

que se formaron 5 grupos de 20 animales cada uno (Cuadro 1).

Cada animal vacunado recibió 1 sola dosis contenida en 2 ml por vía intramuscular y fueron sangrados al igual que los testigos antes de la vacunación. Posteriormente a los 8,

86, 180 y 210 días, los sueros fueron evaluados mediante la prueba de seroneutralización (Cuadro 2) siguiendo la técnica descrita por el comité de expertos de la OMS (Koprowsky, 1973).

CUADRO 2

Título de anticuerpos post-vacunación.					
Anticuerpos en diluciones serológicas	0 días	8 días	86 días	180 días	210 días
Grupo 1					
< 1:5	* 20	8	4	6	6
1:5 a < 1:25	0	0	7	4	6
1:25 a < 1:125	0	0	3	3	1
> 1:125	0	12	6	7	7
% de animales con anticuerpos	0%	60%	60%	70%	70%
Grupo 2					
< 1:5	* 20	11	4	4	7
1:5 a < 1:25	0	5	5	5	6
1:25 a < 1:125	0	2	4	5	2
> 1:125	0	1	3	3	5
% de animales con anticuerpos	0%	40%	60%	60%	65%
Grupo 3					
< 1:5	* 20	2	17	11	13
1:5 a < 1:25	0	2	4	6	4
1:25 a < 1:125	0	0	7	4	4
> 1:125	0	3	1	1	1
% de animales con anticuerpos	0%	20%	35%	45%	35%
Grupo 4					
< 1:5	* 20	11	11	11	11
1:5 a < 1:25	0	0	1	1	3
1:25 a < 1:125	0	0	1	1	2
> 1:125	0	0	1	1	2
% de animales con anticuerpos	0%	45%	40%	40%	40%

\* Indica total de animales del grupo.

Transcurridos 2 años después de la vacunación se efectuó la prueba de potencia de la vacuna mediante el desafío con una cepa de origen vampiro, con un título en ratón lactante de  $10^{7.38}$  DI.50%/ml. Los animales desafiados fueron seleccionados escogiendo 1, 10, 10, 10 y 8 para cada grupo respectivo. El criterio que se siguió fue, 3 animales con títulos de anticuerpos 1:5, 3 de 1:25, 3 con 1:125 y el décimo al azar excepto en el Grupo 1. Los testigos fueron escogidos al azar. Para el desafío se aplicó en los músculos maseteros 2.5 ml en cada lado. La dosis de desafío total fue de 24 millones de partículas virales. En los sueros de los animales en los diferentes grupos vacunados fue posible detectar la formación de anticuerpos a los 8 días en un 60%, 40%, 30% y 45% respectivamente a los 180 días 70%, 80%, 45% y 40% respectivamente a los 210 días 70%, 65%, 35% y 45% respectivamente (Cuadro 2). En la prueba de desafío el Grupo 2 protegió al 100% de los animales. En el grupo 3 70%, el Grupo 1 55% y el Grupo 4 50% mientras que en el Grupo testigo hubo una mortalidad del 50%.

Correlacionando los resultados obtenidos al desafío con los títulos de anticuerpos observados, encontramos que en el Grupo 2 hubo una protección del 100% (Cuadro 3) la serología correspondiente a los 180 días dio un 80% de animales con títulos mayores de 1:5. En cuanto al Grupo 3 corresponde que la respuesta serológica a los 180 días fue de 45% con títulos mayores de 1:5. En el Grupo 1 la respuesta serológica máxima fue observada a los 86 días con títulos mayores de 1:5 en el 80% de las muestras de los animales. Finalmente en el Grupo 4 los niveles de anticuerpos máximos fueron los que corresponden a los 86 días teniendo un 45% de las muestras títulos mayores de 1:5. Todos los datos serológicos mencionados tienen una relación directa con el porcentaje de protección conferida a excepción del porcentaje correspondiente a los 210 días del grupo 4.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente: La mortalidad observada en el Grupo testigo no fue satisfactoria pudiéndose deber a que la cepa de exposición fue titulada en ratones y no en bovinos o bien que a pesar de la

CUADRO 3

Prueba de potencia					
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo testigo
Total de animales	9	10	10	10	8
No. de animales muertos post-desafío.	4	0	3	5	4
Sobrevivientes	5	10	7	5	4
% protección	55.6%	100%	70%	50%	50%

patogenicidad para ratón no fue patógena para bovinos. Es importante considerar que el desafío se llevó a cabo a los 24 meses después de la vacunación, período que para un biológico antirrábico inactivado resulta excesivo ya que generalmente se recomienda la revacunación anual.

Los resultados nos indican que en los subsecuentes trabajos deben de utilizarse lotes vacunales con un título mínimo de  $10^6$  DL.50%/ml, adicionando adyuvantes con las características del FAS-16. Todas las observaciones relacionadas a la antigenicidad y potencia de la vacuna V-319/Acatlán con B-propiolactona indican la necesidad de tomar en cuenta los resultados obtenidos hasta la fecha y continuar con su desarrollo.

## SUMMARY

Four groups of bovines with 20 animals per groups was inoculated with a antirrabid vaccine, strain V-319/Acatlán inactivated with B-propiolactone. The Group 1 with a title  $10^5$  DL.50%/ml and adyuvant FAS-16. The Group 2 with a title  $10^6$  DL.50%/ml and adyuvant FAS-16 Group 3 with a title  $10^5$  DL.50% ml and the adyuvant Willstaetter, type C and Group 4 with a title  $10^4$  DL.50%/ml and the adyuvant Willstaetter type C. The animals were bled at 8, 86, 180, 360 days. The serum neutralization test shown to us that the highest protection was with the second group because 80% at 180 days has antibodies and at 310 days 65% maintain antibodies. In the challenge we used 47 animals with 8 controls. In the Group 1 died of 9 animals, in the group the 10 animals has survival for the challenge, Group 3 died 3 of the 10 animals, Group 4 died 5 of the 10 animals. In the Group of the controls, 4 animals died of the 8 animals. The

challenge strain, origin bath, with a title in mice of 21 days was  $10^{7.39}$  DL.50%/ml.

## LITERATURA CITADA

BATALLA C., J.J. MENDEZ B., D. GONZALEZ S., F. GARCIA., D. OROS C., 1981. Prueba de inocuidad y antigenicidad de la vacuna antirrábica Acatlán V-319 en borregos y cabras. **Memorias de la XV. Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias** México, D. F.

BATALLA C., J. MORALES R., D. GONZALEZ S., D. OROS C., 1981. Prueba de antigenicidad de la vacuna antirrábica que existen en México (Serología a nueve meses) **Memorias de la XV Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias**, México, D. F.

BIJLENGA, G., E. HERNANDEZ B. y R. MAR, C., 1971. Vacunación experimental en ganado con una cepa de rabia de origen murciélago vampiro, elaborada en cultivo celular. **Resúmenes de la VIII Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias**, SAG.

CUNHA, R.G.; SILVA, R. A.; SILVA N.M. 1977. Effect of a stabilizer on the antigenicity of the immunizing potency of an inactivated antirabies vaccine. **Revista Brasileira de Biología** 37 (2): 345-350.

GONZALEZ, D., D. BATALLA, y J. GONZALEZ 1982. Inocuidad y respuesta serológica a la vacuna antirrábica V-319/Acatlán en gato doméstico a los 30, 60, 90, 240 y 365 días posvacunación. **Téc. Pec. Méx.**, 42:74-77.

HERNANDEZ BAUMGARTEN, E. M. 1976. La rabia pareasiente bovina: definición del problema y metodología de control. **Ciencia Veterinaria**, Vol. 1:104-126 U.N.A.M.

HERNANDEZ; E., J. CAMPOS, J. SAGARDIA., H. PEREZ., D. GONZALEZ, M. FERNANDEZ., A. SANCHEZ y R. RAMSDEN, 1976. Prueba de extinción antigénica de la vacuna V-319/Acatlán contra el Derriengue en bovinos desafiados al año de la vacunación, **Resúmenes de la XII Reunión Anual, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias**, SAG.

KOPROWSKY, H., 1976. Prueba de inoculación al ratón. Técnicas de laboratorio en rabia 3a. Ed., **Organización Mundial de la Salud**. Ginebra.

LARGHI, O.P., SAVY, V.P., Nevel, A.E. and RODRIGUEZ A., 1976. Ethylenimine, Beta-propiolactone-inactivated rabies vaccine of tissue culture origen **J. Clin. Microbiol.** 3(1): 26-33.

LEPINE, P., P. ATANASIU., A. GAMET. y C. VIALAT., 1975. Vacuna inactivada de encéfalo de cordero. Técnicas de laboratorio en rabia 3a. Ed. **Organización Mundial de la Salud**, Ginebra.

PEREZ, H., D. GONZALEZ., M. FERNANDEZ., E. HERNANDEZ., D. OROS., M. MARTELL y F. GARCIA. 1981. Inmunidad provocada por la cepa V-319/Acatlán en perros a los 30 meses de la vacunación, **Téc. Pec. Méx.**, 41:76-79.

PETERMANN, H.G., Sobleboy, J. P., LANG, BRANCHE, R. 1971. Vaccination against rabies

of carnivores and herbivores with an inactivated vaccine, produced in tissue culture. **Bolletín de la Société des Sciences Vétérinaires et de Médecine Comparés de Lyon** 73 NO. 2, 123-140. I. F.F.A. Mérieux, 254 rue Marcel-Mérieux, 69 - Lyon (72).

SAGARDIA, J.E. HERNANDEZ., GONZALEZ, D., FERNANDEZ, M y PEREZ H. 1982. Duración de la inmunidad conferida por la vacuna V-319/Acatlán contra la rabia en perros con desafío a un año de la vacunación, **Téc. Pec. Méx.**, 43:87-91.

SYVAIN, J.P. 1970. Vaccination of dogs rabies: use of a propiolactone inactivated vaccine. Theso escolle Nationale Vétérinaire de Lyon. 84 p.