

Estudio de la tolerancia local y de la inocuidad de las vacunas muertas emulsionadas en un adyuvante oleoso (y II)

D. Lombardi

(*Rivista di Avicoltura*, 55: 6, 19-28, 1986)

Estudio de la seguridad de las vacunas muertas por la presencia de posibles contaminantes en los substratos de los cultivos

Pasamos ahora a examinar la tercera componente que está en la base de la inocuidad y seguridad de las vacunas por lo que se refiere a contaminantes posiblemente presentes en los substratos de los cultivos adoptados para la finalización de la suspensión vírica inactivada.

Los medios de cultivo más comunes, como es notorio, son los huevos embrionados de gallina o de pata. Debido a que la betapropiolactona es el agente químico más utilizado para inactivación de los principales virus aviares y a que el Ministerio de Sanidad prohíbe el empleo de formalina para la preparación de vacunas muertas, en nuestro laboratorio se ha estudiado la acción de dicha betapropiolactona frente a algunos organismos bacterianos o víricos, especialmente conocidos por su posibilidad de contaminar los embriones de pollo y de pato. La acción de la betapropiolactona se ha estudiado particularmente frente a la *S. gallinarum*, al *Mycoplasma gallisepticum* y a los virus de la leucosis linfoide y de la retículoendoteliosis.

Este último agente contaminante fue estudiado en consideración a su posible presencia en los huevos de pata, en los cuales suele cultivarse el virus del EDS.

Por lo que se refiere a la *S. gallinarum* y al *M. gallisepticum*, se tomaron muestras de líquido alantoideo de huevos embrionados normales y se infestaron con cada uno de estos dos microorganismos, para lo que se partió de cultivos en caldo de 24-36 horas;

la concentración final de cada uno de los dos agentes patógenos en el líquido alantoideo fue de cerca de 10^7 UFC por ml. Las dos suspensiones de líquido alantoideo conteniendo uno de los dos microorganismos mencionados se subdividieron en varios lotes y se sometieron a inactivación con concentraciones escalares de betapropiolactona. Para las pruebas de inactivación del virus de la leucosis se operó con las cepas RAV 1 y RAV 2 recibidas del Dr. Biggs, representando respectivamente al subgrupo A y al subgrupo B del virus de la leucosis. Para el virus de la retículoendoteliosis se actuó con virus de la cepa F recibida del Dr. Purchase, del Laboratorio Avícola Regional East Lansing, Michigan —EE.UU—. Para esta prueba los dos virus fueron cultivados separadamente en tejidos de fibroblastos de embrión de pollo SPF. Tras ser recogidos los cultivos infectados conteniendo los dos virus, se sometieron a congelación y descongelación para favorecer la salida de partículas víricas de las células para ser sucesivamente inactivadas con betapropiolactona a distintas concentraciones. Para las pruebas de inactivación, las distintas suspensiones conteniendo virus de la leucosis inactivados por concentraciones escalares de betapropiolactona fueron inoculadas en cultivos primarios de fibroblastos de embrión de pollo, los cuales se sometieron a subcultivos en serie, con intervalos de 3-4 días por un espacio de 15 días. Al final de cada pase, fue preparado un extracto celular sobre el que se efectuó la prueba COFAL para poder poner de manifiesto el antígeno de grupo específico del virus de la leucosis linfoide.

Por lo que se refiere al control de la inac-

tivación del virus de la retículoendoteliosis, los cultivos primarios de fibroblastos de embrión de pollo SPF fueron inoculados con suspensiones de este virus sometidos también a inactivación con concentraciones escalares de betapropiolactona. Una suspensión celular infectada no inactivada fue inoculada simultáneamente como control. Después de 5-6 días de incubación a 37° C., los cultivos celulares, tanto los inoculados con virus inactivados como con una suspensión celular control infectada no inactivada, fueron valoradas con el método de los anticuerpos fluorescentes. La presencia de virus de la retículoendoteliosis se ponía de manifiesto por la aparición de grupos de células con las características de fluorescencia granular intracitoplasmática.

De los datos del estudio se desprende que los virus de la leucosis linfoide y de la retículoendoteliosis y el *Mycoplasma gallisepticum* fueron muertos con betapropiolactona a la concentración de 0,025% (1:4.000). Para la esterilización del líquido alantoideo infectado con *S. gallinarum* fue necesaria una concentración doble o sea 0,05 por ciento (1:2.000).

Los resultados de esta investigación ofrecen un significado de importancia sobre las concentraciones de betapropiolactona y su capacidad de inactivar el virus de la leucosis linfoide, de la retículoendoteliosis y cepas diversas de *S. gallinarum* y *M. gallisepticum* ante concentraciones variables de betapropiolactona utilizada en la práctica para inactivación de los virus más comúnmente utilizados en la preparación de las vacunas muertas.

La concentración de betapropiolactona utilizada habitualmente varía según el tipo de virus, desde un mínimo del 1 por 1.000 —que es la corrientemente empleada para la inactivación de los virus de Newcastle, de la bronquitis infecciosa y de la influenza—, hasta un máximo del 5 por 1.000, que es la usada para la inactivación del virus del EDS el de la artritis vírica y el de la enfermedad de Gumboro. Estos datos indican que las concentraciones de betapropiolactona utilizadas en la preparación de las vacunas muertas son por lo menos cuatro veces mayores que las demostradas como capaces de matar al virus de la leucosis, retículoendo-

teliosis y *Mycoplasma gallisepticum* y por lo menos dos veces mayores que las capaces para la inactivación de la *Salmonella gallinarum*.

El empleo en la práctica de la betapropiolactona a las concentraciones anteriormente señaladas confiere por lo tanto seguridad e inocuidad al uso de las vacunas muertas, no sólo porque es capaz de ejercer una segura actividad inactivante frente a los virus específicos vacunantes sino porque a las mismas concentraciones consigue excluir la supervivencia de cualquier contaminante presente en el embrión de pollo o de pato, que como se ha señalado se presentan actualmente en los substratos sobre los que se cultivan los principales virus usados para la elaboración de las vacunas muertas.

Técnica de aplicación de las vacunas muertas

Antes de entrar en las conclusiones del estudio, deseamos analizar brevemente unos aspectos de naturaleza puramente práctica, ligados al uso de vacunas muertas, como es su aplicación.

La inoculación aplicada incorrectamente puede ser la base de reacciones anormales, las cuales se producen como consecuencia de la falta de respeto a las normas técnicas necesarias para su adecuada aplicación. Como es sabido, las vacunas muertas se suelen inocular por vía subcutánea en la región del cuello, o por vía intramuscular en la pechuga o en el muslo. La inyección subcutánea en el cuello representa ciertamente la vía de aplicación más rápida, pero sin embargo, requiere mayor cuidado y atención que las aplicadas en los músculos de la pechuga o del muslo.

La inyección en el cuello debe ser efectuada únicamente por vía subcutánea, evitando la inoculación de la vacuna en la piel —vía intradérmica— o en los músculos del cuello. La inyección intradérmica puede causar una fuerte inflamación con notable hinchazón en el punto de aplicación, mientras que la inoculación de la emulsión en los músculos del cuello podría causar graves procesos inflamatorios con necrosis de los tejidos y la consiguiente dificultad o

“Soy la plancha aislante de color verde Vd. puede mojarme tranquilamente.”

En los establos y naves agropecuarias reina un clima extremadamente húmedo en la mayoría de los casos. Polvo y paja ensucian paredes y techos, por lo que es necesario lavarlos de vez en cuando.

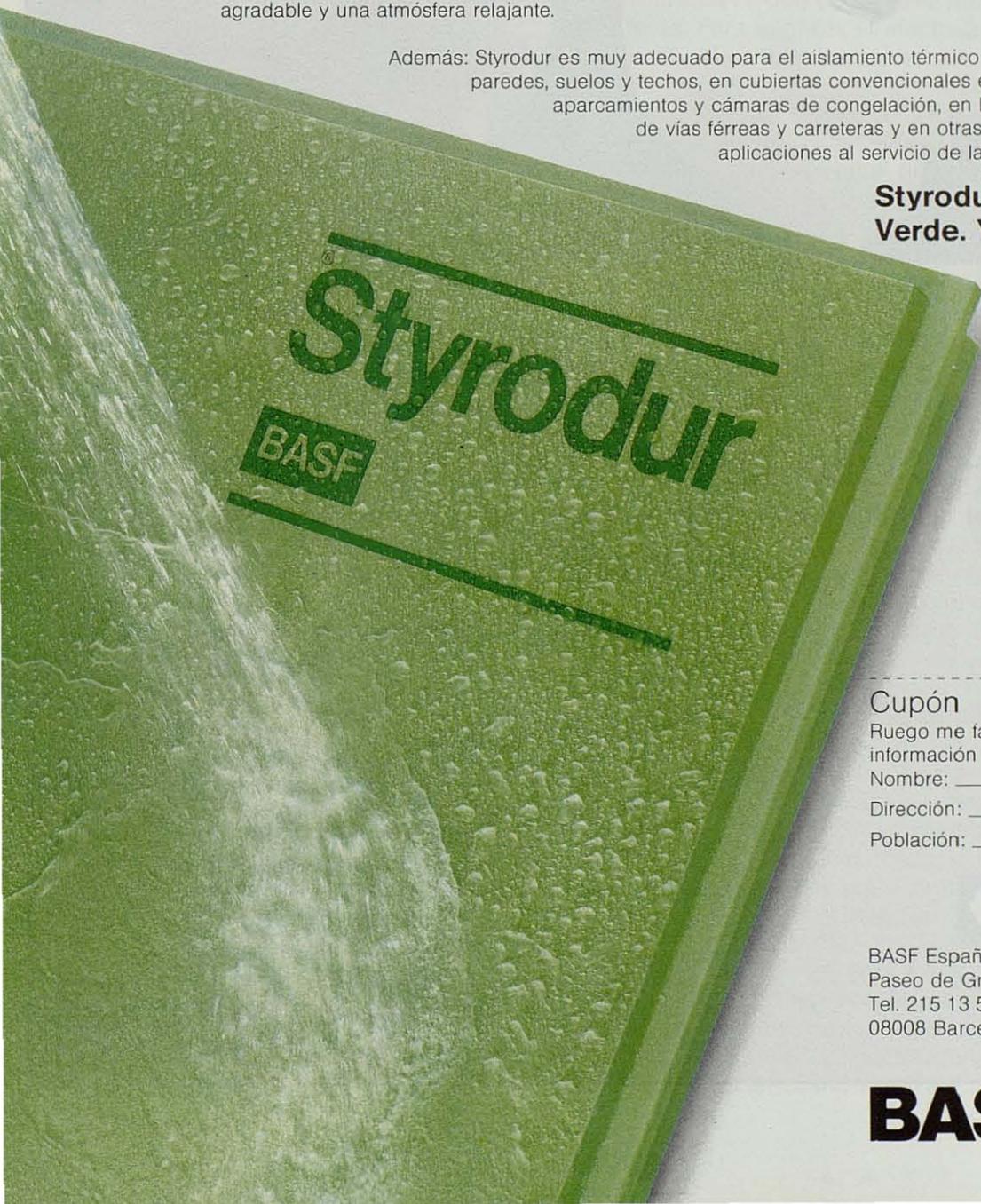
Con un techo de Styrodur, esto puede hacerse siempre sin problemas, pues el Styrodur con la superficie lisa por ambas caras, es insensible a la humedad y resistente a la presión. Las planchas de Styrodur prestan un excelente aislamiento, con lo que el calor emitido por los animales basta para mantener templado el establo sin necesidad de una fuente de calor adicional.



Los techos de Styrodur son fáciles de montar y su textura y color ofrecen una vista agradable y una atmósfera relajante.

Además: Styrodur es muy adecuado para el aislamiento térmico de paredes, suelos y techos, en cubiertas convencionales e invertidas, aparcamientos y cámaras de congelación, en la infraestructura de vías férreas y carreteras y en otras muchas aplicaciones al servicio de la construcción.

Styrodur®:
Verde. Y de BASF



Cupón sa

Ruego me faciliten más información sobre Styrodur

Nombre: _____

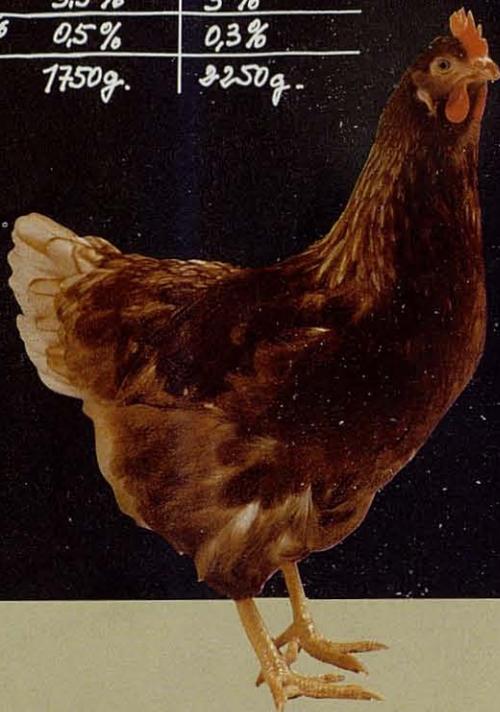
Dirección: _____

Población: _____

BASF Española S.A.
Paseo de Gracia, 99
Tel. 215 13 54
08008 Barcelona

BASF

	<i>HISEX BLANCA</i> 82 semanas	<i>HISEX RUBIA</i> 78 semanas
<i>Producción ave día</i>	341	315
<i>Peso medio del huevo</i>	62,0g	64,0g
<i>Conversión de pienso</i> (kg. pienso/kg. huevos)	2,26	2,37
<i>Mortalidad y trájete en tectia</i>	3,5%	3%
<i>Mortalidad y trájete en puesta/més</i>	0,5%	0,3%
<i>Peso corporal final</i>	1750g.	2250g.



Estos son los promedios para las ponedoras Hisex durante 1985. Ninguna otra ave puede mejorarlos. Pero usted sí puede.

No hallará resultados de producción ni de tamaño de huevo, ni de eficacia en el consumo de pienso, en los datos de producción de las demás estirpes en 1984 que puedan superarlos. Las mejoras de Hisex Blanca e Hisex Rubia siguen adelante. Hasta el punto de que los demás programas científicos de selección se quedan rezagados. Nuestros resultados de campo son todavía más espectaculares. Nos demuestran que con un buen manejo mejoran las producciones, las conversiones de pienso y dismi-

nuye la mortalidad. Empiece a tener las mejores ponedoras del mundo: Hisex Blanca e Hisex Rubia. Y después continúe con un buen manejo que le ayude a batir los promedios. Incluido el promedio de beneficios de su explotación en los años anteriores.

HYBRO IBERICA, S.A.
Roger de Lluria, 149, 1.º 1.ª
Tel.: (93) 237 61 62
08037 Barcelona
Télex: 98625 ERID-E



Euribrid

impedimento del animal a mover la cabeza y alimentarse.

La inyección de la vacuna por vía intramuscular en el pecho o en el muslo presenta potencialmente menores riesgos y causa menos problemas, si bien la absorción en tales circunstancias resulta más lenta. Esta vía de administración resulta todavía escasamente práctica en los pollitos, pues no tienen todavía un suficiente desarrollo de sus masas musculares. La inoculación en la pechuga es preferible al muslo, pues siendo este último de dimensiones más reducidas se mantiene el riesgo de causar daños a las numerosas fascias, nervios y vasos que lo atraviesan. Para una correcta administración de la vacuna, deberá tenerse un especial cuidado con los instrumentos. El tamaño de la aguja estará de acuerdo con la zona de inyección, midiendo de media a una pulgada de longitud y con un calibre de 18 a 20. Estas agujas estarán esterilizadas, limpias y bien afiladas y deberían cambiarse cada 500 aplicaciones.

Una última consideración sería la autopuntura, acontecimiento no infrecuente para el personal que efectúa las vacunaciones. Estos productos producen serias reacciones locales con dolor persistente, especialmente cuando se incide en la punta del dedo. En estos casos el operador informará al médico sobre la naturaleza del producto vacunante, pues se producirían daños importantes que podrían llegar en el peor de los casos a la mutilación de la zona inyectada.

Principales características y ventajas de las vacunas muertas sobre las vivas

Las vacunas aviares muertas —bacterinas y virus muertos en particular— han tenido un gran desarrollo en el último decenio y se usan ampliamente en la práctica. Este tipo de vacunas ha sido motivo de numerosos estudios e investigaciones en Italia y otros países, contribuyendo fundamentalmente al desarrollo de la crianza industrial de aves a través del control de algunas de las enfermedades víricas más difundidas e importantes, como son la peste aviar, la bronquitis infecciosa, el EDS'76, la enfermedad de Gumboro, la artritis vírica y la influenza aviar. Aunque entre las bacterianas no de-

ben olvidarse el cólera, la *Pasteurella* o *Moraxella anapestifer*, las colibacilosis y el coriza o rinotraqueitis del pavo causada por el *Alcaligenes faecalis* denominado también *Bordetella avium*.

Las razones de la particular atención de los investigadores hacia este tipo de productos inmunizantes son múltiples, pudiendo resumirse de la siguiente forma:

—Frente a las vacunas vivas, las muertas ofrecen la ventaja de estimular la inmunidad directamente, por intervención del antígeno preformado y contenido en la dosis de vacuna muerta, actuando de forma directa sobre las células del sistema inmunocompetente. Para explicar el efecto inmunizante de los virus o de los gérmenes contenidos en las vacunas vivas se sabe que éstos deben penetrar en las células sensibles y vivas y multiplicarse en ellas hasta producir por cantidad y duración en el tiempo una carga antigénica suficiente para provocar la reacción del sistema inmunitario. Esta infección vacunal, clínicamente inaparente, provoca específicamente sólo por las vacunas vivas, produce una situación de stress que debilita a los animales más susceptibles, los cuales podrían padecer como consecuencia infecciones secundarias como las conocidas y descritas por el coli o los micoplasmas.

—Otra ventaja de las vacunas muertas se debe a la ausencia de riesgos de introducir en la granja —como ocurre con las vacunas vivas— agentes extraños, los cuales pueden hacerse nuevamente virulentos o difundirse en animales receptivos. Esto último puede darse con ciertas vacunas, como las de la laringotraqueitis, bronquitis infecciosa o encefalomielitosis.

—Las vacunas muertas se administran individualmente a cada ave, por lo que su respuesta inmunitaria es uniforme, cosa que no sucede a veces con las vacunas vivas, en las cuales la vacunación en masa aunque se realice con el mayor cuidado, difícilmente logrará tener niveles uniformes de respuesta inmunitaria y de protección.

—La respuesta inmunitaria de tipo humoral —producción de anticuerpos circulantes— que se obtiene con las vacunas muertas, es normalmente más elevada que con las vacunas vivas, lo cual constituye una ventaja especial cuando se trata de vacunar.

a las madres, como sucede en la enfermedad de Gumboro, si se intenta transmitir a los descendientes elevados niveles de anticuerpos en la primera semana de vida. La producción de elevados niveles de anticuerpos permite reducir o incluso eliminar las revacunaciones, que se hacen necesarias para las vacunas vivas, con objeto de que la inmunidad producida pueda alcanzar niveles significativos de protección. La alta capacidad de producir anticuerpos circulantes no debe inducir a interpretaciones inexactas. El sistema inmunitario, como es sabido, reacciona a los estímulos antigénicos, bien sea con producción de inmunidad humoral, inmunidad célula-mediata o inmunidad local. Para la protección contra algunas infecciones por microorganismos bacterianos o víricos la inmunidad célula-mediata puede resultar quizás más importante que la inmunidad conferida por altos niveles de anticuerpos humorales. Una vacunación —por ejemplo por vía ocular con vacuna viva atenuada de la bronquitis infecciosa— induce una producción local de anticuerpos con superior eficacia a la producida por una vacunación con vacuna muerta. La protección local representa una característica específica de las vacunas vivas, que como es bien sabido, revisten un papel fundamental, especialmente para la protección contra las enfermedades infecciosas que afectan a las vías respiratorias altas y al tracto digestivo.

—Otra importante ventaja de las vacunas muertas se debe a la posibilidad de asociar en un único preparado antigénico elementos contra varias enfermedades. Estas vacunas polivalentes permiten luego simplificar los programas de vacunaciones, con notable ahorro de tiempo y mano de obra por reducción del número de inyecciones a aplicar.

Sin embargo, al igual que ocurre con todos los productos que produce la investigación, aunque poseen determinadas ventajas, también existen algunos inconvenientes, que pueden resumirse así:

—Los costes de producción de las vacunas muertas son notablemente más altos que los de las vacunas vivas. El antígeno o los antígenos contenidos en las vacunas muertas son de hecho incapaces de reproducirse en las células o los tejidos sensibles

del ave; por lo tanto, para que haya una respuesta inmunitaria adecuada la carga de antígenos debe ser suficientemente alta para que produzca una importante tasa de anticuerpos, superiores si cabe a las vacunas vivas. Otros componentes que contribuyen a aumentar su costo son los adyuvantes oleosos, los cuales encarecen el precio no sólo por su valor intrínseco sino porque las dosis tienen un volumen considerable, con el consiguiente aumento de los gastos de producción, transporte y almacenamiento. Por último, también se halla el costo de la mano de obra de aplicación en granja, cuya incidencia a veces es aún mayor que el propio costo de la vacuna.

Conclusiones y perspectivas

Como conclusión de esta explicación sobre las vacunas muertas —cuyo objetivo principal ha sido ilustrar aspectos más importantes de su tolerancia local e inocuidad— creo que es válido hacer una consideración sobre las perspectivas futuras y el aspecto actual de las investigaciones.

Los trabajos de búsqueda para mejorar el grado de tolerancia de las vacunas muertas se están desarrollando en dos direcciones distintas: la primera se refiere a la producción de antígenos siempre más sofisticados y en altísimo grado de pureza y la segunda a los adyuvantes.

Por lo que se refiere a los primeros, sabemos que los mejores antígenos son proteínas, especialmente de alto peso molecular. Estas proteínas o parte de las mismas —llamadas polipéptidos— figuran entre los componentes más importantes de todos los microorganismos bacterianos o víricos.

El sistema inmunitario, como es sabido, es capaz de reaccionar y responder a cada uno de estos antígenos; en la práctica, sólo algunos de entre ellos son considerados "antígenos críticos" o proteínas con un papel fundamental e indispensable para la inmunidad. Los estudios actuales tienden a descubrir e identificar estos "antígenos críticos" o protectores, representados posiblemente por una sola proteína o polipéptido. Serán por lo tanto estos antígenos en un próximo futuro los que reemplazarán o sustituirán a los organismos bacterianos o

Use defensas más específicas



Coripravac



La primera oleovacuna inactivada polivalente a base de serotipos A, B y C autóctonos contra el Coriza aviar, cuya alta especificidad y grado de adyuvantación le hacen conferir cotas inmunitarias elevadas.

LABORATORIOS DE SANIDAD VETERINARIA HIPRA, S.A.
MADRID: PASEO MARQUES DE ZAFRA, 21 - TEL. (91) 245 20 24 - MADRID - 28
AMER (GERONA): LAS PRADES, 5/N - TEL. (972) 43 08 11 - TELEX 57341 HIPR E

DUNKE

Vende más sin destapar



Ovotherm Jumbo



Ovotherm Large

No esconda la calidad de su producto.

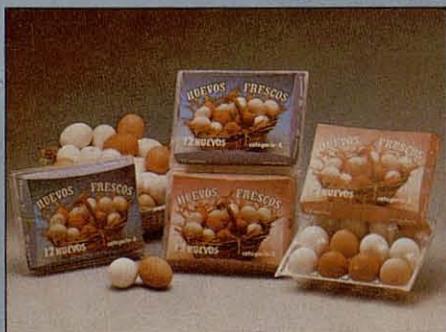
Muéstrela en los nuevos estuches de la gama OVOTHERM® "CRISTAL".

OVOTHERM® "CRISTAL" es un envase higiénico, atóxico, resistente y respaldado por el R.S.I. n° 39. 4129/CAT.



Avitherm

Novedades Ovotherm®



Master



Ovoplano



Maxi

DUNKE, S.A.

CENTRAL:

Torrente Can Ollé, s/n. SANTA PERPETUA DE MOGODA (Barcelona)

Tels.: (93) 560 26 99 - 560 27 99 - 560 28 51 - 560 29 08

DELEGACIONES Y ALMACENES:

CENTRO: Madrid - NORTE: Pamplona - CANARIAS: Las Palmas y Tenerife. - SUR: Sevilla. - BALEARES: Palma

víricos incluídos actualmente en las vacunas muertas.

La exclusión por lo tanto de toda sustancia extraña al material antigénico, es decir, basándose en el uso de proteínas inmuno-específicas en alto grado de pureza, producirá en un futuro una mejoría de la tolerancia local de las vacunas muertas, tanto en forma simple como en vacunas polivalentes, existiendo una mayor capacidad reactiva.

La otra dirección de los estudios en curso en el campo de la seguridad e inocuidad de las vacunas muertas se refiere a la potenciación de la respuesta inmunitaria por medio de nuevas sustancias adyuvantes en substitución de los actuales adyuvantes oleosos. Entre las numerosas sustancias estudiadas, son objeto de particular atención, algunos carboxivinilpolímeros. El uso de estas sustancias se halla ampliamente difundida en el campo farmacéutico, tanto humano como veterinario, encontrándoseles amplias aplicaciones como agentes espesantes, gelificantes, emulsionantes y como medios de retrasar la cesión de los fármacos y por tanto, de controlar la absorción de los mismos.

Por causa de estas últimas propiedades y muy especialmente sobre la tolerancia local y atoxicidad de estas sustancias, se ha propuesto la intervención de estas carboxivinilpolímeros en el campo de la elaboración de vacunas, como agentes adyuvantes para potenciación de las respuestas inmunitarias. Algunos tipos de carboxivinilpolímeros se

están ya utilizando con éxito como sustancias adyuvantes en la preparación de vacunas muertas para porcicultura.

Ensayos de tolerancia y actividad adyuvante de algunos carboxivinilpolímeros vienen siendo realizados en nuestro laboratorio, aplicándoseles antígenos víricos aviares. En el transcurso de estas experiencias de laboratorio con este nuevo tipo de adyuvante, no se ha apreciado ninguna reacción anormal en el punto de inoculación, tanto en las vacunas monovalentes como en las polivalentes. Ni siquiera repitiendo las vacunaciones en la misma zona a intervalos de 3-4 semanas se han apreciado alteraciones locales anormales.

Si estos primeros resultados tienen ulterior confirmación en los estudios de campo ya en curso, no dudamos que se abrirá un nuevo campo en lo referente a la inocuidad y seguridad en el uso de las vacunas muertas, especialmente si se considera el notable grado de tolerancia local y general revelada en todos los lotes de animales tratados con estos nuevos adyuvantes siempre que se corresponda con una sólida respuesta inmunitaria.

Estos son sólo unos datos anticipados, cuya validez podrá ser confirmada sólo al final del programa de experimentación en curso. Estas vacunas muertas parecen ofrecer en último término nuevas perspectivas de notable interés científico y práctico en el campo de la producción y aplicación en avicultura.

AGENTES DE ESTA REVISTA EN EL EXTRANJERO

Argentina:	Librería Agropecuaria, S.R.L. —Pasteur, 743 Buenos Aires.
Chile :	Bernardo Pelikan Neumann. Casilla 1.113 Viña del Mar
Panamá:	Hacienda Fidanque, S.A. Apartado 7.252 Panamá.
Portugal:	Antonio Augusto Fernández. Livraria Ofir. Rua de San Ildefonso, 201 Porto.
Uruguay:	Juan Angel Peri. Alzaibar 1.328 Montevideo.