

# ESTUDIOS SOBRE PRODUCCION DE EPITELIOS Y SU RELACION CON LA ELABORACION DE VACUNAS ANTIAFTOSICAS TRES AÑOS DE EXPERIMENTACION

Por el Dr. RAIMUNDO LEANIZ RIVARA <sup>1</sup>

Trabajo del Instituto de Bacteriología.

Desde que Waldmann-Kobe dieron a conocer en 1938, en el Congreso de Zurich, la vacuna antiaftosa formada por el complejo hidróxido de aluminio-virus formol, un problema difícil se planteó a la industria; la fuente del material antigénico o virus a utilizar. Desde entonces hemos tenido muchos adelantos, pero es indiscutible que ningún sistema ha superado en calidad, al que obtiene dicho material del propio bovino "in Vivo", inoculando su epitelio lingual y aprovechando todos sus tejidos epidérmicos reaccionantes.

En países como Uruguay, donde la Fiebre Aftosa es siempre enzoótica y a veces epizoótica, era de pensar que no todos los bovinos inoculados reaccionarían en igual forma; por este motivo, creo de sumo interés dar a conocer mi trabajo de alrededor de tres años de experimentación, primero en una y luego en dos plantas de inoculaciones de "Laboratorios Norte S. A." mientras estuve al frente de su dirección técnica hasta el 16-XII-57.

---

1) Prof. de Enfermedades Infecto-Contagiosas (int.).  
Asistente Técnico del Inst. de Bacteriología de la Fac. de Veterinaria de Montevideo.

Es mi deseo al dar a conocer estos datos estadísticos, sacar promedios, conclusiones y aportar un material sumamente necesario al país, mediante el cual se puede conocer el volumen del epitelio virulento que podrían proporcionar **todos los mataderos, si se inoculasen los bovinos con virus de la Fiebre Aftosa previamente a su matanza.** Esta riqueza vírica en potencia, es el mejor material antigénico para la producción de vacuna antiaftosa que nos pueden proporcionar las técnicas actuales y es imprescindible conocerla frente a una posible campaña de contralor de la Fiebre Aftosa.

La semilla que utilicé para las inoculaciones, fue tipificada animal por animal del cual provenía, frente a sueros de mi producción y sólo aquellas que dieron reacciones de cuatro cruces y totalmente negativas a los virus heterólogos, fueron enviadas a las plantas de inoculaciones para ser inyectadas a los animales. El epitelio vírico fue preparado con sumo cuidado cada vez que se procedía a la inoculación, teniendo en cuenta la temperatura (de 4° a 6° C.); su pH, (7.4 - 7.6) y su concentración (alrededor del 2%). A cada animal que se inoculó se le practicó un ligero estudio clínico especialmente de todo su epitelio bucal, toilet de la lengua, y luego inoculación con jeringas y agujas apropiadas, inyectándose a cada uno, en la parte dorsal de la lengua, 40 a 60 cc. de la suspensión vírica en 25 a 45 puntos distintos. Todas estas operaciones se realizaron con personal especializado en dos a tres minutos. La cosecha de epitelio, que consiste en el raspado de la lengua reaccionante se hace inmediatamente de extraído este órgano, previa limpieza con agua estéril y soluciones taponadas, y una vez recogido el epitelio se congela inmediatamente a -30°C.

Las cepas de virus utilizadas fueron aisladas en nuestro país, teniendo hasta el momento, 67 estudiadas, de las cuales varias se han utilizado para realizar las distintas inoculaciones.

Cada tipo de virus se inoculó en forma continuada por 15 a 20 días y antes de comenzar con otro tipo, se realizaba una desinfección con calor o carbonato de sodio (soda cristal) al 5%, de todo el instrumental, instalaciones, ropas etc.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

1) Animales inoculados y epitelio cosechado. Porcentajes por animales, por virus y totales.

AÑO 1955. Datos recabados de una sola planta de inoculación.

Mes	Animales inoculados			Epitelio cosechado			Totales		
	A	O	C	A	O	C	An. Inoc.	Epit.	Cos.
Ene.	—	100	—	—	1.722	—	100	1.722	grs.
Feb.	135	37	—	2.083	2.470	—	172	4.553	"
Mar.	59	—	—	2.734	—	—	59	2.734	"
Abr.	140	—	336	4.653	—	13.976	476	18.629	"
May.	294	289	—	10.280	12.850	—	583	23.130	"
Jun.	126	—	31	3.030	—	1.063	157	4.093	"
Jul.	—	110	324	—	3.823	12.574	434	16.397	"
Ago.	78	427	—	1.211	15.698	—	505	16.909	"
Set.	444	—	—	14.700	—	—	444	14.700	"
Oct.	—	144	344	827	4.866	18.095	488	23.788	"
Nov.	256	185	—	7.754	10.220	—	441	17.974	"
Dic.	241	—	179	9.682	—	6.835	420	16.517	"
Totales:	1.773	1.292	1.214	56.954	51.649	52.543	4.279	161.146	"

**Promedios:** Por animales inoculados.

Virus A	32.12	grs.
Virus O	39.97	"
Virus C	43.28	"
Promedio general	37.65	"

AÑO 1956. Datos recabados de una sola planta de inoculación.

Mes	Animales inoculados			Epitelio cosechado			Totales		
	A	O	C	A	O	C	An. Inoc.	Epit.	Cos.
Ene.	34	321	108	1.108	12.893	5.128	463	19.120	grs.
Feb.	387	—	74	13.794	—	3.662	461	17.466	"
Mar.	—	272	143	—	12.897	7.217	415	20.114	"
Abr.	273	89	52	9.668	3.923	2.410	414	16.001	"
May.	—	44	156	—	2.340	7.659	200	9.999	"
Jun.	106	154	—	3.536	6.442	—	260	9.978	"
Jul.	207	110	219	6.734	5.004	9.372	536	21.110	"
Ago.	128	302	83	4.100	11.601	3.307	513	19.008	"
Set.	217	—	285	8.120	—	10.428	502	18.548	"
Oct.	245	272	48	9.558	11.969	1.971	565	23.498	"
Nov.	49	—	213	2.249	—	10.372	262	12.621	"
Dic.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Suma:	1.646	1.564	1.381	58.867	67.069	61.526	4.591	187.462	"

REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

**Promedios:** Por animal inoculado.

Virus A .....	35.76	grs.
Virus O .....	42.87	"
Virus C .....	44.62	"
Promedio general .....	40.83	"

**AÑO 1957.** Datos recabados de dos plantas de inoculaciones.

Mes	Animales inoculados			Epitelio cosechado			Totales		
	A	O	C	A	O	C	An. Inoc.	Epit.	Cos.
Ene.	116	63	—	3.688	1.632	—	179	5.320	grs.
Feb.	80	209	126	3.047	6.963	5.189	415	15.199	"
Mar.	180	208	115	4.583	6.188	3.754	503	14.525	"
Abr.	640	427	263	17.307	17.715	8.630	1.330	43.652	"
May.	224	330	571	8.236	16.153	23.771	1.125	48.160	"
Jun.	732	152	278	25.865	5.130	11.356	1.162	42.351	"
Jul.	537	536	193	16.510	21.360	7.806	1.266	45.676	"
Ago.	202	—	810	6.343	—	30.219	1.012	36.562	"
<b>Totales:</b>	<b>2.711</b>	<b>1.925</b>	<b>2.356</b>	<b>85.579</b>	<b>75.141</b>	<b>90.725</b>	<b>6.992</b>	<b>251.445</b>	<b>"</b>

**Promedios:** Por animales inoculados.

Virus A .....	31.56	grs.
Virus O .....	39.03	"
Virus C .....	38.50	"
Promedio general .....	35.96	"

**RESUMEN GENERAL**

Año	Animales inoculados			Epitelio cosechado			Totales		
	A	O	C	A	O	C	An. Inoc.	Epit.	Cos.
1955	1.773	1.292	1.214	56.954	51.649	52.543	4.279	161.146	grs.
1956	1.646	1.564	1.381	58.867	67.069	61.526	4.591	187.462	"
1957	2.711	1.925	2.356	85.579	75.141	90.725	6.992	251.445	"
<b>Totales:</b>	<b>6.130</b>	<b>4.781</b>	<b>4.951</b>	<b>201.400</b>	<b>193.859</b>	<b>204.794</b>	<b>15.862</b>	<b>600.053</b>	<b>"</b>

**Promedios:** Generales y totales.

Virus A .....	32.85	grs.
Virus O .....	40.54	"
Virus C .....	41.36	"
Promedio general .....	37.82	"

(Sobre 15.862 animales inoculados)

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

2) Animales inoculados reaccionantes con aftas extendidas o aftas locales.

**AÑO 1956.** Datos recabados de una sola planta de inoculación.

Tipos de Virus inoc.	Animales inoculados	Reaccionantes		Con aftas extendidas		Con aftas locales	
		Cant.	Porcent.	Cant.	Porcent.	Cant.	Porcent.
A	1.646	1.646	100.00%	482	29.28%	1.163	70.65%
O	1.554	1.552	99.87%	743	47.81%	809	52.05%
C	1.381	1.380	99.92%	813	58.87%	567	41.05%
<b>Totales:</b>	<b>4.581</b>	<b>4.578</b>	<b>99.91%</b>	<b>2.038</b>	<b>44.48%</b>	<b>2.539</b>	<b>55.40%</b>

**AÑO 1957.** Datos recabados de una sola planta de inoculación.

A	1.893	1.841	98.30%	758	40.04%	1.083	57.21%
O	1.493	1.434	96.04%	869	58.20%	565	37.84%
C	1.455	1.455	100.00%	764	52.50%	691	47.49%
<b>Totales:</b>	<b>4.841</b>	<b>4.730</b>	<b>97.70%</b>	<b>2.391</b>	<b>49.42%</b>	<b>2.339</b>	<b>48.30%</b>

**RESUMEN SOBRE DOS AÑOS DE TRABAJO**

Tipos de Virus inoc.	Animales inoculados	Reaccionantes		Con aftas extendidas		Con aftas locales	
		Cant.	Porcent.	Cant.	Porcent.	Cant.	Porcent.
A	3.539	3.487	98.53%	1.240	35.03%	2.246	63.46%
O	3.047	2.986	97.99%	1.577	55.60%	1.258	44.35%
C	2.836	2.835	99.96%	1.612	52.90%	1.374	45.09%
<b>Totales:</b>	<b>9.422</b>	<b>9.308</b>	<b>98.79%</b>	<b>4.429</b>	<b>47.00%</b>	<b>4.878</b>	<b>51.77%</b>

**Nota 1.** Todos los porcentajes expresados se han llevado hasta la segunda cifra decimal, aunque podría ser conveniente aproximar los valores a la primera cifra decimal.

**Nota 2.** Interpretamos como lengua reaccionante, aquella que presenta por lo menos un afta local, sea cualquiera su tamaño, pero no llegando a ser una reacción de todo el dorso de la lengua, en este caso se clasifica como afta extendida.

**OBSERVACIONES IMPORTANTES.**

En estos años de inoculaciones continuadas, he podido realizar una serie de observaciones interesantes entre las cuales algunas merecen destacarse.

La producción de epitelio virulento depende de:

- A) Causas inmunitarias;
- B) Causas relacionadas con las cepas, sistemas y manipulaciones empleadas;
- C) Otras causas que desarrollaremos en su capítulo.

**A) Causas inmunitarias.**

Todo animal que haya pasado aftosa, es por varios meses resistente a la inoculación homotípica. Por otra parte, **he podido comprobar que un animal vacunado contra la fiebre Aftosa en pleno período de inmunidad, es generalmente receptivo a la inoculación masiva intradermo lingual de los virus aftósicos.** Es pues muy importante la primera observación y por tal, el conocimiento de los brotes o enzootias aftósicas; del punto de vista de su tipificación. Los tres virus de la Fiebre Aftosa son inmunológicamente distintos, reaccionando positivamente el epitelio lingual de los animales cuando se realiza la inoculación heterotípica, más aún, cuando se practica en forma masiva.

**B) Causas relacionadas con las cepas, sistemas, manipulaciones empleadas.**

1º Es importantísimo en las inoculaciones el uso de cepas que además de ser satisfactorias antigénicamente tengan alta virulencia para el bovino.

Toda cepa a utilizar debe llegar hasta el momento de la inoculación con toda su virulencia, para lo cual es imprescindible controlar en todas sus etapas; pH, concentración, etc. etc.

2º El inoculador debe ser consciente de su trabajo y en ningún momento mezquinar ni puntos de inoculación, ni cantidad de suspensión vírica del 2% al 3% inoculada, vía intradermo lingual, por animal: 30 a 50 cc. Número de puntos realizados por animal: 25 a 45 (depende mucho de la forma como se extiende el inoculum en el dermis lingual).

3º Existen familias dentro de una misma raza, donde pude comprobar que el factor "espesor epitelio lingual" era causa de cierta dominancia zotécnica.

Un establecimiento en Cerro Largo que remitía animales de raza Hereford al matadero donde inoculábamos y que no padecía de Fiebre Aftosa desde hacía varios años, me permitió comprobar que más de un 90% a pesar de reaccionar en porcentajes semejantes a otros lotes, daban pocos "gramos de epitelio", debido al poco espesor del epitelio lingual. Este establecimiento en general

sigue del punto de vista zootécnico una misma familia y sus reproductores, desde hace años son de un mismo origen.

4º Es importante la edad de los animales. Del punto de vista reaccional ratificando que los terneros casi reaccionan en un 100% pero, por el pequeño tamaño de su lengua y teniendo en cuenta el porcentaje de animales adultos y viejos reaccionantes, si consideramos los "gramos de epitelio" cosechados, el rendimiento siempre ha resultado superior en los adultos.

He tenido tropas de 50 - 100 animales con más de 50 gramos de epitelio vírico por animal y esto muchas veces se debió a que en ella habían animales adultos con órganos linguales de gran tamaño, a veces representados por bueyes, que en general, reaccionaban muy bien.

Los bueyes o novillos viejos en los establecimientos de campo, generalmente son los que han recibido más vacuna y/o mantienen una inmunidad acumulativa por enfermedad de años anteriores como para resistir una cohabitación con animales enfermos de aftosa. No obstante debo destacar que estas inmunidades vacinal o de enfermedad de larga data, son impotentes frente a la inoculación masiva local, de una cepa virulenta.

### RESUMEN Y CONCLUSIONES.

1º En tres años de experimentación (1955-1957), sobre inoculaciones de virus aftosos en animales destinados al abasto en dos plantas de inoculaciones en el Uruguay se han obtenido los siguientes promedios, por animal, de epitelio cosechado sobre un total de 15.862 bovinos inoculados:

Virus A (Vallée) .....	32,85	grms.
Virus O (Vallée) .....	40,54	"
Virus C (Waldmann) .....	41,36	"
Promedio general .....	37,82	"

2º Sobre 9.422 animales inoculados durante los años 1956 y 1957 se han obtenido: en 47% aftas extendidas y en 51,77% aftas locales.

3º Los títulos promedio en lauchas lactantes 50% (Skinner, Reed y Muench), de los virus obtenidos han sido:

	-6,5	a	-7,5
Para cepas A (Vallée) .....	10		10
	-6,375		-7,59
Para cepas A (Vallée) .....	10	a	10
	-6,3		-6,5
Para cepas C (Waldmann) ..	10	a	10

4º El Uruguay tiene una materia prima inexplorada de gran valor que en cualquier momento podría obtenerse a bajo costo, simplemente eliminando las exigencias de cámaras frías para la maduración de las carnes provenientes de animales inoculados intraderno lingual con virus de la F. A. (Decreto 15 IX 953), de gran onerosidad para su instalación y de ningún valor profiláctico para evitar la diseminación de los virus de la F. A. en nuestro ambiente.

5º De acuerdo a la última estadística conocida del Ministerio de Ganadería y Agricultura del Uruguay la faena del interior en mataderos no exportadores durante el decenio 1940-49, fue promedialmente por año de 380.000 vacunos, multiplicado por el coeficiente obtenido de 37,82 grms. se obtendría 14.361,600 kilogramos de epitelio virulento aftósico. Actualmente debido al aumento de la matanza en centros no exportadores esta cifra es superada.

6º Con este epitelio, el Uruguay puede encarar una campaña de lucha y control de la F. A., a bajo costo, con vacunas de la mejor calidad, ya que su producción alcanzaría fácilmente los 100.000.000 (cien millones) de dosis de vacunas anuales.

### SUMMARY AND CONCLUSIONS

1º — In over three years' experimenting (1955-57) in the inoculation of cattle, destined for supply, with foot and mouth virus, two inoculation centres in Uruguay have yielded the following averages per animal of epithelium gathered from 15.862 inoculated head of cattle:

Virus A (Vallée) .....	32.85	grammes
Virus O (Vallée) .....	40.54	"
Virus C (Waldmann) .....	41.36	"
General average .....	37.82	"

2º — From 9.422 inoculated head of cattle in 1956-57 the following results have been obtained: in 47% extended. Vesicles and in 51.77%, local Vesicles.

3º — For unweaned Skunner, Reed and Muench mice, the average figures obtained are:

	-6.5		-7.5
For strain A .....	10	a	10
	-6.375		-7.59
For strain O .....	10	a	10
	-6.3		-6.5
For strain C .....	10	a	10



4° — Uruguay is rich in raw materials which could at any moment be attainable at a low cost, simply by discarding the requirements of cold chambers (used in the frocers of chilling beef) which encourages the maturing of flesh coming from animals inoculated by an intradermo lingual means with virus of foot and mouth disease: a method which, put into effect by decree in 15 IX 53, is costly to instal and is of no prophylactic use whatever as a way of avoiding the spread of the Foot and Mouth virus in our country.

5° — According to the latest statistics emitted by Uruguay's Ministry of Agriculture, the up country non export slaughter houses averaged, in the decade of 1940-49, 380.000 slaughterel animals per annum. This multiplied by the coefficient of 37.82 grammes, gives 14.361.000 kilogrammes epiteliu with Foot and Mouth disease virulence. At Present, due to an increase in slaughtering in no export centres, these figures are even higher.

6° — With this epiteliu, Uruguay kean undertake a campaign to fight and control this disease with high quality vaccines, and at a low cost, as its production could reach the one hundred million mark of vaccine doses a year.

### RESUME

1) En trois ans d'expérimentation (1955 à 1957) sur l'inoculation de virus aphteux à des animaux destinés à deux centres d'inoculations en Uruguay, les moyennes d'épithéliu récolté par animal sur un total de 15.862 bovins inoculés ont été les suivantes:

Virus A (Vallée) .....	32,85 g.
Virus O (Vallée) .....	40,54 g.
Virus C (Waldmann) .....	41,36 g.

2) Sur 9.422 animaux inoculés au cours des années 1956 et 1957, on a obtenu dans le 47% des cas des aphtes étendus et dans le 51,77% des cas des aphtes locaux.

3) Chez des rats à la mamelle 50% (Skinner, Reed et Muench) les moyennes des titrages de virus obtenus ont été les suivantes:

	-6,5	-7,7
Qualité A (Vallée) .....	10	à 10
	-6,375	-7,59
Qualité O (Vallée) .....	10	à 10
	-6,3	-6,5
Qualité C (Waldmann) .....	10	à 10

4) L'Uruguay possède une matière première de haute valeur, encore inexploitée, et qui pourrait en toute éventualité faire l'objet d'une exploitation à prix de coût réduit, par la simple élimination de la nécessité d'employer, pour la maturation des viandes provenant d'animaux inoculés par voie intradermo-linguale avec le virus de la F.A. (décret du 15|IX|53) des chambres froides dont l'installation est très onéreuse et qui n'ont aucune valeur prophylactique pour éviter la dissémination des virus de la F.A. dans nos milieux.

5) Suivant la dernière statistique publiée par le Ministère de l'Élevage et de l'Agriculture de l'Uruguay, le nombre d'animaux abattus à l'intérieur de la République par des abattoirs non exportateurs, au cours de la décade 1940-1949 a atteint une moyenne annuelle de 380.000 bovins ce qui, multiplié par le coefficient obtenu de 37,82 g. donnerait 14.361.600 k. d'épithélium virulent apteux. Actuellement, ces chiffres sont encore dépassés étant donné l'augmentation du nombre d'animaux abattus dans des centres non exportateurs.

6) Avec cet épithélium, l'Uruguay peut envisager une campagne de lutte et de contrôle de la F.A. à bas prix avec des vaccins de la meilleure qualité, puisque sa production atteindrait facilement 100 millions de doses de vaccin par an.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) PALMA, Eduardo E. y RIVENSON, Scholein. (1955). — *La Producción De Epitelio para la Elaboración Industrial de la Vacuna Antiaftosa*. Boletín del Instituto Nacional de la Fiebre Aftosa. Ministerio de Agricultura de la Nación, Buenos Aires. Rca. Argentina.
- 2) SCHANG, Pedro J. y otros. (1944). — Informe Técnico. Recopilación de publicaciones sobre el problema de la Fiebre Aftosa de los Laboratorios Afta. Pág. 191, Buenos Aires. Rca. Argentina.
- 3) HENDERSON, W. M. (1948). — *The Survival Of Foot-And-Mouth Disease Virus In Meat And Offal*. Journal of Hygiene. Vol. 45, N° 4.
- 4) SCHANG, Pedro J. (1929). — *Casos Prácticos de Aislamiento de Aftosa en la Cría a Campo*. Recopilación de publicaciones sobre el problema de la F. Aftosa de los Laboratorios Afta. Pág. 9, Buenos Aires. Rca. Argentina.
- 5) Minister of Agriculture and Fisheries to Parliament by Command of Her Majesty. (1952-1954). — *Foot-And-Mouth Disease. Report of the Departmental Committee*.
- 6) Minister of Agriculture and Fisheries to Parliament by Command of Her Majesty. (July 1954). — *Report Of The Departmental Committee On Foot-And Mouth Disease*. London Her Majesty Stationery Office.
- 7) HENDERSON, W. M. (1949). — *The Quantitative Study Of Foot-And-Mouth Disease Virus*. A.R.S. Report Series N° 8. Agriculture Research Council.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

- 8) BLANC, Rafael A. (1949). — *Comportamiento del Hidrato de Sodio Puro, de la Soda Común y del Carbonato de Sodio Comercial, Frente al Virus Aftoso*. Publicación del Instituto de Investigaciones. N° 10, Buenos Aires. Rca. Argentina.
- 9) SKINNER, H. H. (1951). — *Propagation Of Strain Of Foot-And-Mouth Disease Virus In Unweaned White Mice*. Proceeding of the Royal Society of Medicine. Vol. 44, Pág. 1041.
- 10) RICE, Christine E. and BROOKSBY, J. B. (1953). — *Studies Of The Complement Reaction In Virus Systems*. Journal of Immunology Vol. 71, N° 5, November.
- 11) ROTTGARDT, Angel A. (1950). — *Preparación De Los Distintos Reactivos Para La Tipificación Por Fijación Del Complemento del Virus de la Fiebre Aftosa*. Revista de Medicina Veterinaria, Vol. 9, N° 1-4.