ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES INÓCULOS VACUNALES FRENTE A MAMITIS PRODUCIDAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

M. Pérez[1], M. Monzón[1], L. Costa[2] y B. Amorena[1]

[1]CSIC-Unidad de Sanidad Animal (SIA/DGA) 50016-Zaragoza, e Instituto de Agrobiotecnología y Recursos Naturales (CSIC-UPNA). 31006 Pamplona.
[2]Laboratorios HIPRA, S.A. Av. De la Selva 135. 17170 Amer (Girona).

INTRODUCCIÓN

La mamitis por estafilococos representa un grave problema en las razas lecheras de rumiantes, por lo que las medidas profilácticas que se aplican actualmente frente a esta enfermedad están en auge. Se han ensayado diferentes inóculos vacunales con *Staphylococcus aureus* (3, 4, 6, 9). Si bien la tendencia actual consiste en inocular el mínimo número de moléculas extrañas en el organismo, es difícil lograr que éstas induzcan una respuesta suficientemente intensa y de amplio espectro que proteja frente a la infección. También se han utilizado distintos adyuvantes vacunales, ya que pueden potenciar la aparición de distintos tipos de respuestas inmunes. El efecto de la vacuna se evalúa normalmente estudiando el grado de protección conferido tras una infección experimental o natural en el campo (7). También se consideran interesantes los estudios inmunológicos para determinar la producción de anticuerpos inducidos por los distintos inóculos vacunales (8). El objetivo del presente trabajo fue comparar los inóculos vacunales frente a la mamitis por *S. aureus* en ovino intentando establecer una relación de producción de anticuerpos frente a componentes externos de *S. aureus* y el grado de protección conferido tras una infección experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 52 ovejas de la raza "rasa aragonesa" y se establecieron 7 grupos. Seis grupos formados por 6 animales cada uno, vacunados con diferentes inóculos y un grupo control de 16 animales (grupo 7) no vacunados. Los inóculos de los animales vacunados fueron los siguientes:

1 – Toxoide (1) + 2 mg de exopolisacárido purificado (Ep) de *S. aureus* encapsulado en 4 mg de liposomas (2) (Ep + L).
2 – *Escherichia coli* inactivada + (Ep + L).
3 – Ep + L.
4 – 30 mg de extracto por calor (5) de *S. aureus* (no purificado por cromatografía) encapsulado, en 30 mg de liposomas.
5 – *S. aureus* inactivado por calor (cepa ATCC29213 gran productora de Ep) a una concentración de 10^{10} bacterias/ ml con 3‰ de $Al(OH)_3$ como adyuvante.
6 – Ep encapsulado en micropartículas (polímero: 5% p/v y diclorometano: csp).

La vacunación de todos los animales se llevó a cabo por vía intramuscular a los 3,5 meses de gestación, realizándose un recuerdo 5 semanas después. Tras la vacunación, se tomaron muestras de sangre semanalmente para determinar la

presencia de anticuerpos frente a Ep de *S. aureus* mediante una técnica ELISA. Se compararon los niveles de anticuerpos mediante el test de Chi cuadrado. Para detectar posibles reacciones adversas a las vacunas se realizaron exámenes clínicos, incluyendopalpaciones y tomas de temperaturas rectales a las 4 horas tras la vacunación y el recuerdo y semanalmente.

La infección experimental se realizó 4 días después del parto inoculando por vía intramamaria en cada mama, a todos los grupos, 10^3 bacterias (*S. aureus*) de una cepa productora de Ep. Durante los 10 días siguientes a la infección experimental se tomaron muestras de sangre y leche y se midió la temperatura rectal, examinándose y evaluándose los siguientes parámetros (7): estado general del animal, temperatura y color de la ubre, induración local y general de la ubre, dolor a la palpación, grado de inflamación, presencia de mamitis gangrenosa, aspecto de la leche (sangre, coágulos, grumos, color, textura y recuento bacteriológico).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ningún inóculo vacunal indujo en los animales algún tipo de reacción local o cambio de temperatura. En la Fig. 1 se representa la evolución de anticuerpos anti-Ep de los diferentes grupos de animales vacunados, detectándose el mayor nivel de anticuerpos en el grupo 5 que a su vez presentó el mayor grado de protección frente a la infección mamaria respecto del grupo control ($p< 0,01$) (Fig. 2).

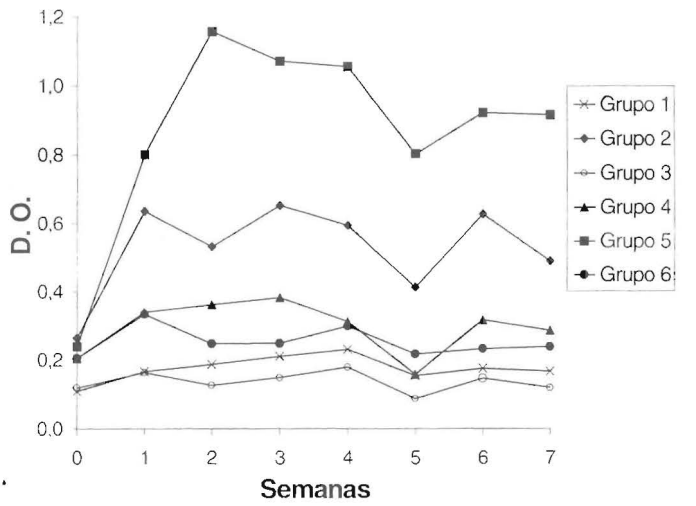


Fig. 1: Evolución de anticuerpos frente a Ep (determinada por densidad óptica, D.O. en ELISA) en animales vacunados.

Por lo tanto, este grupo presentó mayor eficacia en relación a los grupos en los que se utilizó Ep purificado en ausencia de bacterias. La inclusión de *E. coli* en el inóculo

(grupo 2), estimuló la formación de anticuerpos frente a Ep (Fig. 1) pero en menor grado que en el grupo 5, detectándose también una menor protección (Fig. 2).

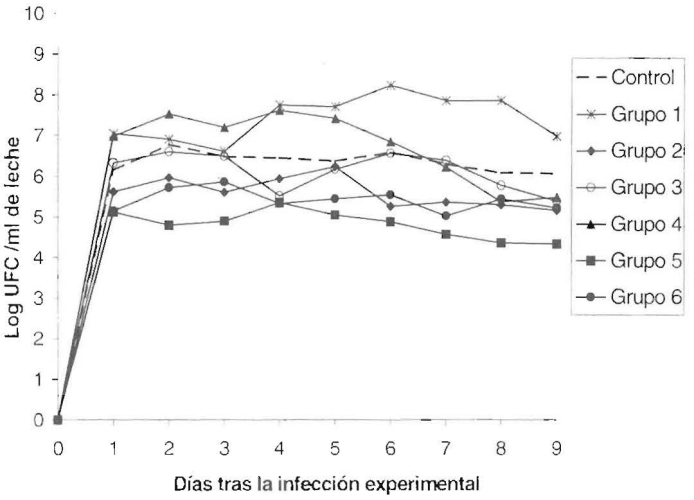


Fig. 2: Recuento bacteriológico (log UFC/ ml de leche) durante 9 días tras la infección experimental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adlam, C., Mcartnay, C.H., Arbuthnott, J.P., Thorkey, C.M., (1977). Infect. Immun. 17(2): 250-256.
2. Amorena, B., Baselga, R., Albizu, I. (1994). Vaccine 12(3): 243-249.
3. Fattom, A. I., Sarwar, J., Ortiz, A., Naso, R. (1996). Infect. Immun. 64(5): 1659-1665.
4. Fattom, A. I., J. Sarwar, L. Basham, S. Ennifar y R. Naso (1998). Infect. Immun. 66: 4588-92.
5. Lee, J.C. (1997). Infect. Immun. 65: 4146-4151.6.
6. McKenney, D., K. L. Pouliot, Y. Wang, V. Murthy, M. Ulrich, G. Döring, J. C. Lee, D. A. Goldmann y G. B. Pier. (1999). Science 284:1523-1527.
7. Nordhaug, M. L., L.L. Nesse, y N.L. Norcross, (1994a). Clinical parameters. Dairy Sci. 77: 1267-1275.
8. Nordhaug, M. L., L.L. Nesse, y N.L. Norcross, (1994b). Antibody response. Dairy Sci. 77: 1276-1284.
9. Watson, D.L., (1988). Res. in Vet. Science. 45:16-21.

AGRADECIMIENTOS. Nuestra expresión de gratitud al personal del Servicio de Investigación Agroalimentaria (SIA DGA) de Zaragoza a cargo de los animales (Echegoyen y sus ayudantes) y la colaboración de J.M. Irache (Universidad de Navarra) para la elaboración de micropartículas conteniendo slime. Financiado por Proyectos CICYT-Hipra (Nº 95-0235-OP) y CICYT BIO 99-0285.