

X

PERSISTENCIA EN TERNEROS DE LA INMUNIDAD POSTVACUNAL CONTRA EL VIRUS AFTOSO

Honigman, M.N., Gomes, I., Abreu Martins, I. de*, Lombardo, R.A.**

INTRODUCCION

Las campañas contra la Fiebre Aftosa (FA) en Sud América se están llevando a cabo a través de vacunaciones regulares cada 4 meses o en algunos casos cada 6 meses, utilizándose vacunas inactivadas.

En lo que se considera una composición normal de la población ganadera de un país, el porcentaje de éstos de menos de un año de edad puede fluctuar entre un 15% y un 20%. La inmunización de este grupo contra la FA es asunto de gran preocupación para las autoridades de sanidad animal de muchos países.

Las referencias disponibles acerca de la inmunización de bovinos jóvenes contra la FA no es muy numerosa. El propósito de este experimento fue obtener más información acerca de la persistencia de la inmunidad conferida a bovinos jóvenes, cuando se usan esquemas diferentes de vacunación y animales de diferentes edades.

MATERIAL Y METODOS

1. Vacuna

Se usó una vacuna inactivada trivalente, preparada de acuerdo a la técnica descrita por Abreu (1). Los constituyentes de esta vacuna fueron: virus aftoso tipo O Vallée, subtipo O₁ cepa Campos; virus aftoso tipo A Vallée, subtipo A₂₄ cepa Cruzeiro; y virus aftoso tipo C Waldmann, subtipo C₃ cepa Resende.

Las suspensiones de virus fueron preparadas de acuerdo al método Frenkel, adsorbidas en hidróxido de aluminio coloidal, inactivadas por formalina, y con la adición de saponina (5, 6, 14). Los títulos infecciosos en ratones lactantes variaron entre 10^{7,3} y 10^{8,0} por dosis de vacuna. Las pruebas de inocuidad fueron hechas de acuerdo a la técnica de Henderson (8), usando dos bovinos para cada suspensión de virus.

La eficiencia del antígeno "C" (vacuna monovalente) de la vacuna trivalente usada en esta prueba fue controlada previamente en bovinos adultos a los uno, cuatro y dieciocho meses después de ser preparada (1), con protecciones de 8/8, 8/8 y 7/8 respectivamente, al inocularlos vía intradermolingual con 10⁴DL₅₀/ratón lactante de virus homólogo.

* Pertenece al Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Caixa Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, Brasil.

**Pertenece al Centro Panamericano de Zoonosis, Casilla de Correo 23, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina.

2. *Bovinos*

Se usó un total de 40 terneros cruzados (Jersey y Cebú), de 6 a 12 meses de edad a la fecha de inicio del experimento, sin contacto previo conocido con fiebre aftosa y cuyas madres eran vacunadas regularmente. Estos terneros fueron elegidos después de hacérseles una prueba para comprobar la ausencia de anticuerpos para los virus aftosos tipos O, A y C de acuerdo a la técnica de Cunha (3). Los animales fueron mantenidos durante todo el período en un predio bajo permanente vigilancia, y se trajeron al CPFA sólo en el momento de la descarga.

3. *Vacunación*

De los 40 terneros, 32 se vacunaron y los otros 8 fueron mantenidos como controles. Los terneros fueron inoculados por vía subcutánea con 5 ml de vacuna trivalente. Los animales fueron entonces divididos en 2 grupos y subsecuentemente en 4 subgrupos, de acuerdo a la edad, al número y espaciamiento de las revacunaciones, presentadas en días postvacunación (DPV) como sigue:

Grupo I - 16 terneros de 6 a 9 meses de edad al efectuarse la vacunación.

Subgrupo Ia - 8 terneros revacunados a los 120 y 240 DPV.

Subgrupo Ib - 8 terneros revacunados a los 60, 120, 180 y 240 DPV.

Grupo II - 16 terneros de 9 a 12 meses de edad al efectuarse la vacunación.

Subgrupo IIa - 8 terneros revacunados a los 120 y 240 DPV.

Subgrupo IIb - 8 terneros revacunados a los 60, 120, 180 y 240 DPV.

4. *Pruebas de inmunidad*

Estas pruebas se realizaron a los 360 DPV (120 días después de la última revacunación) usando virus aftoso tipo C Waldmann, subtipo C₃ cepa Resende como virus de descarga. Los 32 terneros vacunados y los ocho controles se inocularon por vía intradermolingual en 4 puntos con 0,1 ml de suspensión virulenta en cada uno, conteniendo un total de 10^4 DL₅₀/ratón lactante.

5. *Sueros*

Todos los terneros se sangraron antes de la primera vacunación, y después cada 30 días durante todo el experimento. Los sueros se prepararon de acuerdo a la técnica usual (4) y se almacenaron a -25° C. Se inactivaron en un baño de agua a 60° C por 20 minutos antes de ser usados (3).

6. *Pruebas de anticuerpos*

Los niveles de anticuerpos se determinaron por la prueba de seroprotección (SP) en ratones lactantes de acuerdo a Cunha *et al* (3) y dados como índices de SP (ISP).

RESULTADOS

1. Grupo I (terneros de 6 a 9 meses de edad)

En este grupo la respuesta de anticuerpos después de la primera vacunación fue insignificante. El promedio de ISP (1,72) estuvo por debajo de los límites considerados como indicativos de inmunidad.

1.1 Subgrupo Ia (2 vacunaciones a intervalos de 4 meses)

La primera revacunación se hizo a los 120 DPV, y 30 días después (150 DPV) los animales presentaron un efecto "booster" cuando el ISP alcanzó un promedio de 3,33 el cual bajó hasta 1,98 a los 180 DPV y siguió bajando paulatinamente hasta la segunda revacunación a los 240 DPV. Después de esta segunda revacunación hubo un marcado incremento en los niveles de anticuerpos en todos los animales, analizándolos individualmente. Cuando los 8 terneros fueron sometidos a descarga a los 360 DPV sólo 4 de ellos estaban protegidos contra lesiones generalizadas y el promedio de los ISP era 2,29, mientras los 4 no protegidos tenían un promedio de ISP de 0,69 (gráfico 1).

1.2 Subgrupo Ib (4 revacunaciones a intervalos de 2 meses)

Después de la primera revacunación el efecto "booster" fue mayor que el del subgrupo anterior. El ISP se mantuvo encima de 3,0 oscilando levemente entre revacunaciones. Cuando a estos 8 terneros se les sometió a descarga a los 360 DPV, estaban todos protegidos contra lesiones generalizadas, y el promedio de ISP fue 2,27 (gráfico 1).

2. Grupo II (terneros de 9 a 12 meses de edad)

En estos animales, después de la primera vacunación, hubo una respuesta de anticuerpos moderada, un promedio de ISP de 2,2.

2.1 Subgrupo IIa (2 revacunaciones a intervalos de 4 meses)

Estos animales presentaron un promedio de ISP de 2,2 después de la primera vacunación. Esta respuesta persistió hasta los 90 DPV con un promedio de ISP de 1,6. Cuando los animales fueron revacunados por primera vez a los 120 DPV el ISP fue 0,7. Después de la revacunación el efecto "booster" fue muy acentuado y a los 150 DPV el ISP fue 4,46. Los niveles de anticuerpos cayeron a un ISP de 1,21 a los 240 DPV. Después de la revacunación a los 270 DPV se alcanzó un ISP de 3,15. En el momento de la descarga, sólo un animal de los 8 presentó lesiones generalizadas en una pata. El promedio de ISP en el día de la descarga fue 1,68 (gráfico 2).

2.2 Subgrupo IIb (4 revacunaciones a intervalos de 2 meses)

Los resultados obtenidos con este esquema de vacunaciones fueron similares a los obtenidos en el subgrupo Ib, en el cual se usó el mismo

procedimiento. Después de la primera revacunación, a los 60 DPV, el ISP osciló entre 3,0 y 4,62 hasta la última revacunación (4ª) efectuada a los 240 DPV. Cuando se les sometió a la descarga a los 360 DPV, 7 de los 8 animales estaban protegidos contra lesiones generalizadas. El único animal no protegido presentó lesiones en las 4 patas. Se debe mencionar que este animal nunca tuvo una adecuada respuesta de inmunidad incluso después de repetidas vacunaciones. En los animales protegidos el promedio de ISP fue 2,47 (gráfico 2) mientras el animal que presentó generalización tenía un ISP de 0,65 en el día de la descarga.

La distribución mensual del promedio aritmético y el rango de ISP en los 4 subgrupos se presenta en el cuadro 1.

DISCUSION

En terneros, la adquisición de competencia inmunológica ocurre a diferentes edades dependiendo de las características de varios antígenos (13). Esto no ocurre súbitamente en un sólo paso, en el cual el animal adquiere competencia para responder a todos los estímulos antigénicos. El desarrollo de la competencia inmunológica es un proceso lento, y quizás acumulativo, en el cual el animal responde primero a uno, en seguida a otro y finalmente a casi todos o todos los antígenos (9).

La presencia de gamma globulinas en la sangre en cantidades específicas para cada especie animal mamífera, se puede interpretar como indicación de que el sistema protector del organismo está suficientemente desarrollado para producir anticuerpos. Varios investigadores (2, 15, 16) estudiaron por medio de la electroforesis la composición de sueros de animales no vacunados y de animales convalescientes de FA, así como también los de aquellos vacunados contra la FA a distintas edades.

De acuerdo a los análisis hechos por Wehmeyer (16) en sueros de animales no vacunados, la capacidad de producción de gamma globulina aumenta a la par de la edad del animal. Este aumento es lentamente progresivo y en terneros de 8 meses de edad alcanza los niveles del límite normal más bajo del ganado adulto (2 años de edad). Trabajando con bovinos vacunados con diferentes dosis de vacuna antiaftosa, Wehmeyer (17) encontró un aumento en el nivel de globulinas como consecuencia de la vacunación.

Los resultados obtenidos en el presente experimento muestran que los animales de 6 a 9 meses de edad (al principio del experimento) vacunados 3 veces a intervalos de 4 meses, tuvieron una respuesta inmune 50% inferior que la de los animales vacunados 5 veces a intervalos de 2 meses. Los animales fueron vacunados siempre con la dosis normal de vacuna trivalente, o sea 5 ml. La baja respuesta inmune del grupo vacunado tres veces podría deberse al hecho de que éste sólo recibió el 60% del antígeno, comparado con el grupo vacunado 5 veces. Parece probable que con una mayor cantidad de antígeno, la vacunación cada 4 meses diera mejores resultados.

En los terneros de 9 a 12 meses de edad (al principio de la vacunación) la respuesta a la descarga fue la misma con cualesquiera de los dos esquemas de vacunación usados. Sin embargo, es interesante destacar la marcada diferencia en la curva de anticuerpos de este grupo (II) durante todo el experimento, y es importante notar que la última revacunación se efectuó cuando estos animales tenían 17 y 20 meses de edad, y 21 y 24 meses cuando se hizo la descarga, respectivamente.

Muntiu *et al* (11, 12), trabajando con diferentes dosis protectoras de vacuna (DP₅₀), encontró que la inmunidad postvacunal antiaftosa difiere significativamente de bovinos adultos a jóvenes. Concluyó de que sería necesario inocular 4 veces más antígeno para proteger el 50% de terneros de 6 meses de edad, que para proteger bovinos adultos. Por otra parte, la inmunización de bovinos jóvenes sería mejor lograda a través de repetidas vacunaciones ("booster").

Glusko (7) informó que en bovinos de 1 a 18 meses de edad la respuesta de anticuerpos después de la vacunación contra la FA con vacuna inactivada fue más persistente según el aumento en la edad de los animales.

Mackoviak *et al* (10) conduciendo experimentos con el mismo objetivo obtuvo resultados similares a los informados en este trabajo, y concluyó que es más difícil alcanzar una inmunidad sólida y duradera en terneros que en bovinos adultos después de sólo una vacunación. Los mismos autores sugieren que los animales jóvenes deben ser revacunados por lo menos una o dos veces.

Basado en los resultados de este experimento, y considerando la experiencia de otros investigadores, parece que la vacunación de bovinos jóvenes (menos de 18 meses de edad) a intervalos cortos de tiempo es un factor importante para adquirir una condición inmunológica más sólida.

RESUMEN

Una parte esencial en cualquier campaña para controlar la FA es la vacunación regular y uno de los mayores problemas es la inmunización de bovinos jóvenes.

Se usaron dos grupos de terneros, uno de 6 a 9 y otro de 9 a 12 meses de edad a la fecha de comienzo del experimento. Se usó una vacuna trivalente (OAC) inactivada (aluminio hidróxido-saponinada) en dosis de 5 ml. Se aplicaron dos esquemas diferentes de vacunación, con revacunación a intervalos de 60 y 120 días. Los resultados de la descarga con virus aftoso homólogo 120 días después de la última vacunación, o sea 360 después de la primera vacunación, probaron que el mayor porcentaje de animales inmunizados fue de los vacunados a intervalos de 60 días. Este hecho fue comprobado por los valores de ISP durante todo el experimento.

Los resultados obtenidos demuestran que la revacunación a intervalos cortos de tiempo en bovinos jóvenes es un factor importante para adquirir una condición inmunológica más sólida.

PERSISTENCE OF POST-VACCINAL IMMUNITY AGAINST FOOT-AND-MOUTH DISEASE IN CALVES

SUMMARY

An essential part of any campaign for controlling the spread of FMD is the regular vaccination, and one of the main problems is the difficulty to immunize young cattle.

Two groups of calves 6 to 9, and 9 to 12 months old, at the start of the experiment, were used. A trivalent (OAC) inactivated FMD vaccine (aluminum hydroxide-saponin) in 5 ml doses was used. Two different vaccination schemes, with revaccinations at 60 and 120 days intervals, were

applied. The results of challenge with a homologous FMDV 120 days after the last vaccination, or 360 days from the first vaccination, proved that the highest percentage of immunized animals was of those vaccinated at 60 days intervals. This fact was reinforced by the values of the SPI during the entire experiment.

The results obtained demonstrated that revaccination of young cattle at short time intervals is an important factor toward acquiring a more solid immunological condition in these animals.

GRAFICO 1

Media aritmética mensual del ISP en bovinos jóvenes vacunados a los 6 hasta 9 meses de edad (Grupo I)

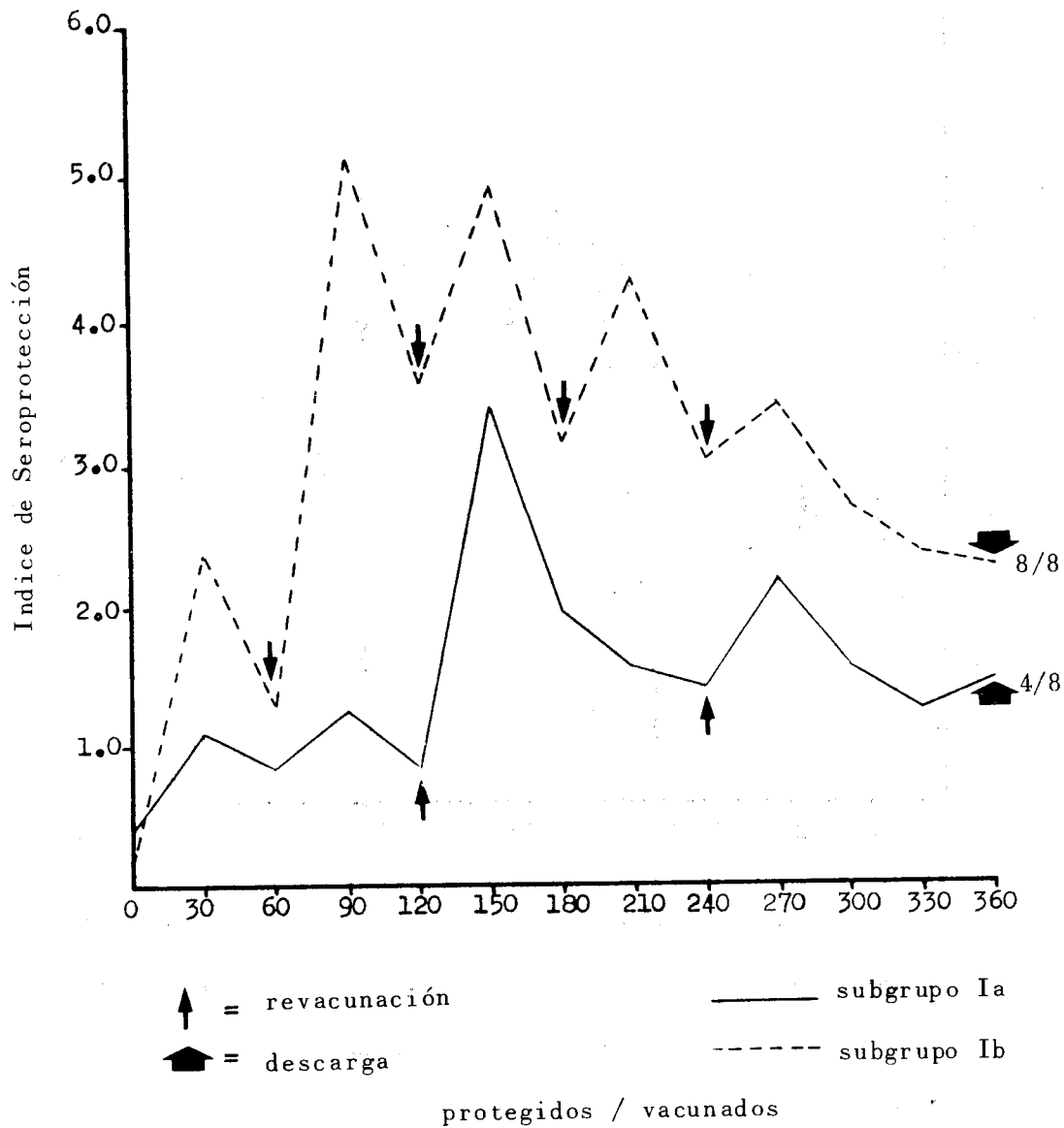
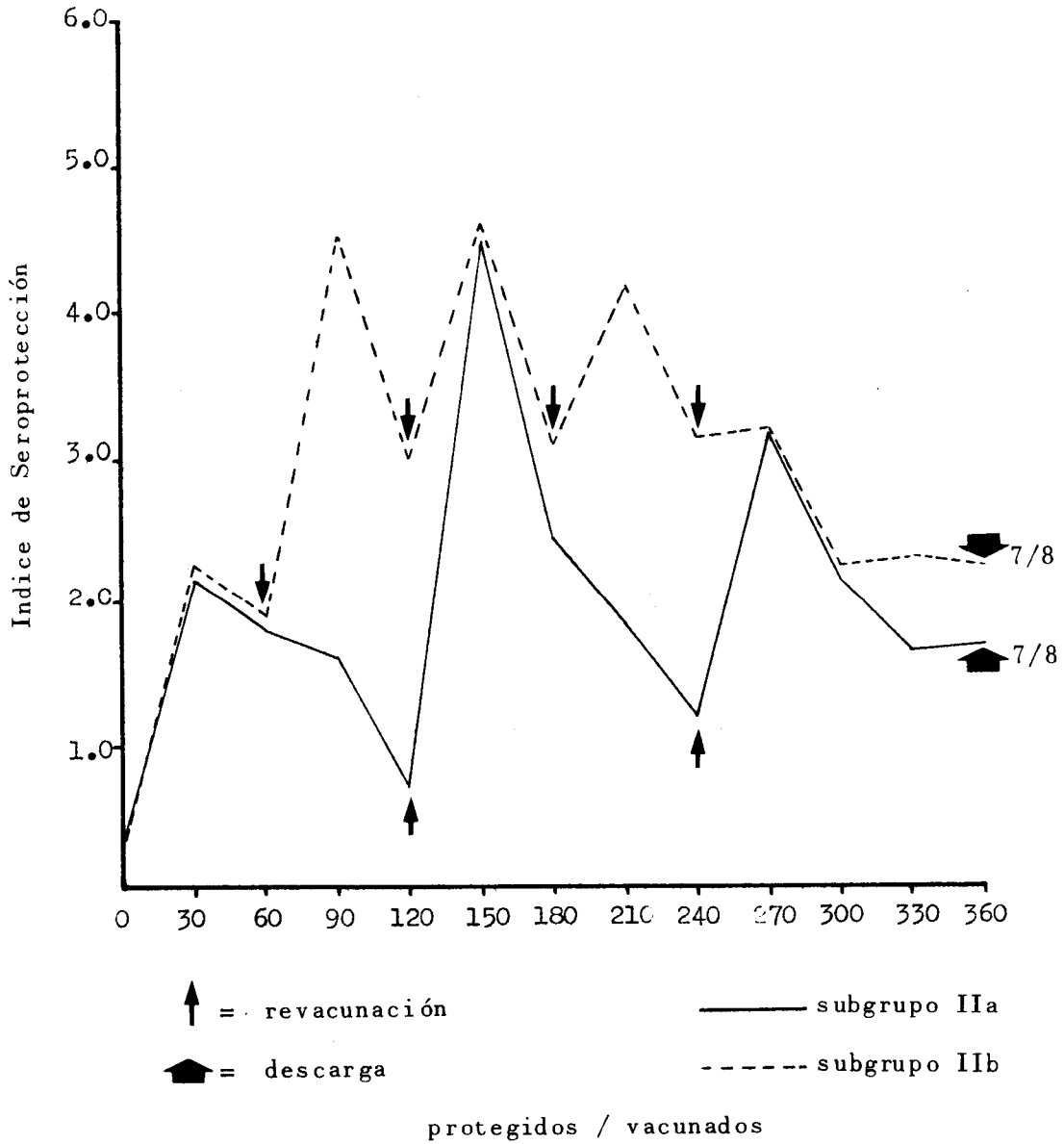


GRAFICO 2

Media aritmética mensual del ISP en bovinos jóvenes vacunados
a los 9 hasta 12 meses de edad (Grupo II)



CUADRO 1

Distribución mensual de la media aritmética y el rango de los índices de seroprotección (ISP)

DPV	I S P			
	Grupo I: bovinos de 6-9 meses		Grupo II: bovinos de 9-12 meses	
	Ia ⁺	Ib ⁺⁺	IIa ⁺	IIb ⁺⁺
0	0.38 (0.00-0.75)	0.21 (0.00-0.50)	0.28 (0.00-0.73)	0.25 (0.00-0.60)
30	1.08 (0.00-3.69)	2.36 (0.37-5.25)	2.17 (1.00-4.90)	2.23 (0.65-4.60)
60	0.84 (0.50-2.13)	1.28 (0.00-2.75)	1.78 (0.75-4.25)	1.90 (0.00-5.13)
90	1.25 (0.00-5.40)	5.11 (3.75-6.00)	1.60 (0.62-4.70)	4.52 (2.25-5.71)
120	0.87 (0.00-2.25)	3.54 (2.55-5.57)	0.70 (0.00-1.61)	2.99 (0.65-6.25)
150	3.33 (1.25-6.00)	4.86 (3.37-6.00)	4.46 (2.75-5.60)	4.62 (2.15-5.85)
180	1.98 (0.60-4.00)	3.13 (2.11-4.50)	2.45 (1.25-4.25)	3.10 (0.65-4.80)
210	1.55 (0.00-4.30)	4.25 (2.03-5.75)	1.85 (0.71-3.66)	4.14 (1.90-6.00)
240	1.42 (0.64-3.40)	3.02 (1.75-5.30)	1.21 (0.37-2.20)	3.16 (0.65-5.75)
270	2.16 (0.50-4.17)	3.43 (2.35-5.75)	3.15 (1.65-5.50)	3.21 (1.50-5.35)
300	1.58 (0.00-3.40)	2.71 (1.25-5.15)	2.13 (0.75-4.60)	2.26 (0.90-4.29)
330	1.29 (0.25-2.40)	2.39 (1.16-4.75)	1.65 (0.50-3.00)	2.32 (0.66-3.90)
360	1.49 (0.50-3.38)	2.27 (0.60-5.75)	1.68 (1.00-3.00)	2.24 (0.65-4.00)

+ - vacunados 3 veces a intervalos de 4 meses

++ - vacunados 5 veces a intervalos de 2 meses

BIBLIOGRAFIA

- (1) ABREU MARTINS, I. de. Vacunas hidróxido-saponinadas inactivadas por el formol. *Boletín del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa*, 1: 1-19, 1971.
- (2) BRADISH, C.J. *et al.* The sera of cattle infected with the virus of foot-and-mouth disease. *Biochem. J.* 56 (2): 335-341, 1954.
- (3) CUNHA, R.G. *et al.* El uso de los ratones lactantes en la evaluación de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significación inmunológica. *Gac. vet.*, B. Aires 19 (110): 243-267, 1957.
- (4) CUNHA, R.G., HONIGMAN, M.N. A comparison of serum test in mice for the detection of foot-and-mouth disease antibody. *Am. J. vet. Res.* 24 (99): 371-375, 1963.
- (5) ESPINET, R.G. Nuevo tipo de vacuna anti-aftosa a complejo glucovírico. *Gac. vet.*, B. Aires 13 (74): 265-276, 1951.
- (6) FRENKEL, H.S. La culture du virus de la fièvre aphteuse sur l'épithélium de la langue des bovidés. *Bull. Off. int. Epizoot.* 28: 155-162, 1947.
- (7) GLUSHKO, B.A. Postvaccinal immunity to foot-and-mouth disease in young cattle. (texto en ruso). *Veterinariya*, Moskva 40 (11): 30-31, 1963.
- (8) HENDERSON, W.M. Significance of tests for non-infectivity of foot-and-mouth disease vaccines. *J. Hyg., Camb.* 50 (2): 195-208, 1952.
- (9) INGRAM, D.G., SMITH, A.N. Immunological response of young animals. I. Review of the literature. *Can. vet. J.* 6 (8): 194-204, 1965.
- (10) MACKOWIAK, C. *et al.* Etude de la durée de l'immunité conférée par le vaccin antiaphteux aux jeunes bovins. *Bull. Off. int. Epizoot.* 57 (1): 937-949, 1962.
- (11) MUNTIU, N. L'immunité post-vaccinale dans la fièvre aphteuse et les principaux facteurs dont elle depend. *Bull. Off. int. Epizoot.* 72 (1): 1133-1155, 1969.
- (12) MUNTIU, N. *et al.* Effect of age of cattle on the postvaccinal FMD immunity. *Arch. Vet.* 6 (1-2): 3-13, 1969.
- (13) SMITH, A.N., INGRAM, D.G. Immunological responses of young animals. II. Antibody production in calves. *Can. vet. J.* 6 (9): 226-232, 1965.
- (14) WALDMANN, O., KOBE, K. Die aktive immunisierung des Rindes gegen Maul und Klauen-seuche. *Berl. tierärztl. Wschr.* 22: 317-320, 1938.
- (15) WEHMEYER, P. Etude physico-chimique du sang et du sérum de boeufs vaccinés contre la fièvre aphteuse. *Rev. Immunol.* 12 (5): 239-243, 1948.
- (16) WEHMEYER, P. Examen par voie d'électrophorèse du serum de vaches et de veaux vaccinés contre la fièvre aphteuse. *Rev. Immunol.* 14 (1-2): 57-62, 1950. 5-63
- (17) WEHMEYER, P. Variation in the composition of blood in cows immunized against foot-and-mouth disease. *Acta path. microbiol. scan.* 34: 591-602, 1953. 5-200