

AGENCY FOR INTERNATIONAL DEVELOPMENT
WASHINGTON, D. C. 20523
BIBLIOGRAPHIC INPUT SHEET

FOR AID USE ONLY

0168

1. SUBJECT CLASSIFICATION	A. PRIMARY Agriculture	AL72-0000-G518
	B. SECONDARY Pests of animals--Colombia	

2. TITLE AND SUBTITLE
Efectos de la descarga natural de Anaplasma marginale en terneros vacunados y no vacunados

3. AUTHOR(S)
Zaraza, Hernan; Kuttler, K.L.; Roberts, E.D.

4. DOCUMENT DATE 1969	5. NUMBER OF PAGES 9p.	6. ARC NUMBER ARC
--------------------------	---------------------------	----------------------

7. REFERENCE ORGANIZATION NAME AND ADDRESS
Tex. A&M

8. SUPPLEMENTARY NOTES (Sponsoring Organization, Publishers, Availability)
(In Revista ICA, v.4, no.3, p.139-146)

9. ABSTRACT

10. CONTROL NUMBER PN-RAA- 117	11. PRICE OF DOCUMENT
12. DESCRIPTORS Anaplasma Colombia Immunity Vaccine therapy	13. PROJECT NUMBER
	14. CONTRACT NUMBER CSD-1947 Res.
	15. TYPE OF DOCUMENT



EFFECTOS DE LA DESCARGA NATURAL DE *Anaplasma marginale* EN TERNEROS VACUNADOS Y NO VACUNADOS

por

H. ZARAZA, K. L. KUTTLER y E. D. ROBERTS

SEPARATA DE LA REVISTA "ICA"
VOLUMEN IV Nº 3 SEPTIEMBRE 1969

**EFFECTOS DE LA DESCARGA NATURAL DE *Anaplasma marginale*
EN TERNEROS VACUNADOS Y NO VACUNADOS ***

H. ZARAZA,
K. L. KUTTLER y
E.D. ROBERTS **

INTRODUCCION

La vacunación experimental con un inóculo conocido, es paso esencial para la evaluación de cualquier agente inmunizante, pero la prueba final debe ser el uso de la vacuna en el campo, para probar su valor en condiciones naturales.

Zaraza y Kuttler (5) realizaron un experimento en el cual se midió la respuesta del huésped a la vacunación con una cepa atenuada de *Anaplasma marginale* y a una vacuna inactivada contra la anaplasmosis, preparada con adyuvante. También se midió el valor relativo de estas vacunas mediante inoculación experimental.

Los experimentos preliminares sugirieron la necesidad de hacer este trabajo bajo condiciones de campo, permitiendo a los animales vacunados sufrir una infección natural en una zona endémica de anaplasmosis.

* Contribución del Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV) del ICA, Ciudad Universitaria, Bogotá. Trabajo realizado con el apoyo de la Fundación Rockefeller y del ICA.

** Respectivamente: Patólogo Asociado del LIMV; Profesor del Instituto de Medicina Veterinaria Tropical, Universidad de Texas, USA, y Director del Programa Nacional de Medicina, Veterinaria, ICA-LIMV, Ciudad Universitaria, Bogotá.

2. MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 20 terneras Holstein-Friesian de tres meses de edad, divididas en cuatro grupos iguales (I - II - III y IV). El grupo I se vacunó el día cero con cinco centímetros cúbicos de una vacuna *A. marginale* atenuado*. Este producto fue enviado en hielo seco y almacenado a menos 40°C durante varias semanas antes de usarlo. El grupo II se vacunó el día cero con dos centímetros cúbicos de una vacuna con adyuvante** y se revacunó el día 42.

Las terneras del Grupo III se inocularon el día cero por vía venosa con 10 centímetros cúbicos de sangre completa, tomada de un ternero con síntomas evidentes de anaplasmosis aguda. El día 17, antes de que se presentara descenso en el hematocrito, se trataron dos terneras del Grupo III con Oxitetraciclina usando 2,7 mg/kg de peso corporal. El día 24, después de haber presentado descenso marcado, en el hematocrito, se trataron las otras tres terneras del Grupo III con el producto 356-C-61***, aplicando 9,0 mg/kg de peso corporal, por vía venosa. Todos los animales de este Grupo se habían recuperado el día 84.

Las terneras del Grupo IV, no se vacunaron ni se trataron; se dejaron como controles susceptibles.

Todos los animales del experimento se mantuvieron en la Sabana de Bogotá (altura aproximada de 2.600 metros sobre el nivel del mar) hasta el día 84, cuando se trasladaron por vía aérea a la costa norte de Colombia, a una zona endémica de anaplasmosis con una altura inferior a 200 metros sobre el nivel del mar. En esta zona se observaron durante 170 días, sin aplicarles ningún tratamiento específico para la anaplasmosis.

Durante el período experimental se tomaron muestras de sangre cada semana y se les determinó el hematocrito. Durante

* Obtenida de los Laboratorios Diamond, Des Moines, Iowa, U. S. A.

** Obtenida de los Laboratorios Dodge, Ft. Dodge, Iowa, U. S. A.

*** Obtenida de Burroughs-Wellcome & Co., Tuckahoe, New York, N. Y.

los primeros 84 días, todos los sueros se examinaron por medio de la prueba de aglutinación en el tubo capilar (Anatest) (2), para detectar anticuerpos específicos de *A. marginale*; luego se usó la prueba de fijación del complemento haciendo las titulaciones en todas las muestras que presentaron reacción positiva de 2+ a 4+ en la dilución 1:5. Para la prueba de fijación del complemento se usó el antígeno del Departamento de Agricultura de los E. U. (4) y la técnica descrita por Hidalgo y Dimopoulos (1).

Para conveniencia en la comparación de los efectos relativos de la infección natural de *A. marginale* entre los grupos (Tabla 1), se asignó un día 0 (día crítico), basado en el hematocrito bajo y asociado con un aumento marcado en los títulos de la fijación del complemento de los sueros.

Después del traslado de los animales a la zona endémica, el día crítico promedio para el Grupo I fue 95 + 20 días; el del Grupo II fue de 67 + 18 días y el del Grupo IV fue de 95 + 25 días. El Grupo III no mostró evidencia de reacción a *A. marginale*; el día 0 fue seleccionado para este grupo con base en un promedio de los tres grupos que mostraron anaplasmosis, y correspondió al día 86 después de la llegada a la zona endémica.

El análisis de varianza (3) se empleó para determinar la presencia de diferencias significativas en la respuesta del hematocrito de cada grupo.

3. RESULTADOS

Después de la vacunación, las terneras del Grupo I desarrollaron una respuesta positiva al Anatest en todo momento. La primera respuesta positiva ocurrió el día 25, y el día 47 todas eran positivas. Los hematocritos individuales y los promedios del grupo, permanecieron normales hasta después del día 84.

Las terneras del Grupo II también desarrollaron reacciones positivas al Anatest después de la vacunación. Esta respuesta se presentó gradualmente en tres de las cinco terneras después de la primera vacunación, pero las reacciones positivas al Anatest fueron aparentes en todos los animales 12 días después de la segun-

da vacunación. Estas reacciones se presentaron en los sueros recolectados hasta el día 84 y persistieron posteriormente. No se observó desviación significativa en el hematocrito normal hasta después del día 84.

Las terneras del Grupo III inoculadas con *A. marginale* virulento desarrollaron anaplasmosis aguda en pocos días. Todas las terneras fueron positivas a la prueba del Anatest 21 días después de la inoculación. Aun con tratamiento, estas terneras mostraron un descenso promedio del hematocrito de $19,2 + 6,6$ en comparación con el promedio de $38 + 2,2$ para todas las terneras en el mismo día. El día 84, el promedio del hematocrito retornó a 30%; sin embargo, era significativamente más bajo que el promedio del hematocrito correspondiente al Grupo II. El promedio del hematocrito del Grupo III en relación con los promedios de los Grupos I y IV, no mostró diferencia significativa.

Además de la reducción en el hematocrito, el día 84 se observó en el Grupo III una reducción significativa en el peso. En el día 144, la ganancia de peso para cada uno de los cuatro grupos era casi la misma, sin ninguna diferencia significativa aparente.

Las terneras del Grupo IV, no mostraron ninguna evidencia de Anaplasma u otro parásito en la sangre; hasta el día 84 permanecieron negativas a la prueba del Anatest y sin alteración significativa del hematocrito normal aceptado.

Después de la llegada a la zona endémica de anaplasmosis, ocurrió un marcado descenso en el hematocrito en todos los grupos; no se pudo atribuir la causa a ninguna infección parasitaria específica en la sangre. El promedio del hematocrito para todos los animales el día 84 fue de 34%, a pesar de que dos semanas después de la llegada a la zona endémica, día 98, el promedio para todos los animales fue de 28% y el día 112 fue de 24%.

Como resultado a la exposición de campo se observaron casos activos de anaplasmosis en todos los animales de los Grupos I, II y IV, lo cual fue evidenciado por marcados aumentos en los títulos de los sueros a la fijación del complemento, reducción del hematocrito y presencia de cuerpos de Anaplasma en frotis de sangre coloreados con Giemsa.

TABLA I. Influencia de la exposición de campo a Anaplasma marginale en terneros vacunados y no vacunados.
DIAS

Animal No.		-42	-35	-28	-21	-14	-7	0	7	14	21	28	35	42
GRUPO I	Promedio de Hematocrito	23,0	22,4	22,0	22,2	22,2	18,0	13,6	16,4	19,0	19,6	21,6	22,6	21,6
	Promedio de Fij. de Com.	1/7	1/8	1/10	1/10	1/6	1/20	1/210	1/180	1/160	1/200	1/80	1/110	1/56
GRUPO II	Promedio de Hematocrito	25,2	24,6	24,0	24,4	24,0	19,4	15,6	18,8	19,8	18,4	19,8	21,5	21,0
	Promedio de Fij. de Com.	1/3	1/4	1/4	1/3	1/66	1/480	1/550	1/420	1/240	1/280	1/110	1/68	1/68
GRUPO III	Promedio de Hematocrito	21,0	22,0	22,0	22,4	20,6	22,0	23,4	22,0	22,2	23,0	22,4	22,0	21,4
	Promedio de Fij. de Com.	1/3	1/2	1/2	1/3	1/5	1/4	1/5	1/14	1/8	1/12	1/16	1/14	1/4
GRUPO IV	Promedio de Hematocrito	21,0	20,0	23,0	21,0	22,0	18,2	12,4	20,6	19,4	17,2	19,6	22,2	19,9
	Promedio de Fij. de Com.	—	—	—	—	1/5	1/190	1/450	1/450	1/80	1/40	1/100	1/64	1/100
Probabilidad de error en las diferencias del promedio de hematocrito		NS	NS	NS	NS	NS	0,05	0,01	0,05	NS	0,05	NS	NS	NS
Diferencia requerida para la significación		—	—	—	—	—	4,0	3,5	4,9	—	4,7	—	—	—

Grupo I: Con vacuna atenuada (Laboratorios Diámond).

Grupo II: Con vacuna adyuvante (Laboratorio Fort Dodge).

Grupo III: Premunizado con Anaplasma virulento y tratado.

Grupo IV: Control sin vacunar.

DIA 0: Tiempo después de llegada a la zona endémica de anaplasmosis cuando ocurrió el hematocrito bajo, como resultado del *Anaplasma marginale*.

H.: Hematocrito.

F. C.: Fijación de complemento (promedio de la dilución de suero que produce fijación del complemento completa).

N. S.: No hay diferencias significativas.

La respuesta de cada grupo basada en el día 0, o en el hematocrito bajo, se registró en la Tabla 1, durante un período de 4 días antes y 42 días después de haber alcanzado el descenso en el hematocrito resultante de la anaplasmosis. Además, fue registrado el promedio de titulación a la fijación del complemento para cada grupo.

En el hematocrito ocurrieron diferencias significativas los días - 7; 0; + 7 y + 21. Por lo demás no se observaron diferencias significativas. En todo instante hubo diferencias notorias, pero el Grupo III siempre mostró los valores más altos de hematocrito.

La anaplasmosis resultante de la infección de campo, fue acompañada por aumentos marcados en los títulos a la fijación del complemento. Esta respuesta fue mayor en los Grupos II y IV. En el Grupo III hubo un ligero aumento en los títulos, pero en ningún instante mostró el aumento de tres a seis veces, tan característico de la anaplasmosis aguda en los otros grupos.

Los títulos a la fijación del complemento sufrieron una disminución gradual, siguiendo los puntos máximos asociados con el hematocrito bajo en todos los grupos reaccionantes.

La premunición con *A. marginale* virulento, seguida de tratamiento, dio una protección completa contra la infección natural de campo. La vacunación de terneras de tres meses de edad con vacuna con adyuvante o con *A. marginale* atenuado, no protegió los animales contra la infección natural.

4. DISCUSION

Las terneras vacunadas a los tres meses de edad no mostraron el mismo grado de protección a la infección natural, como se había reportado previamente para el ganado adulto, vacunado idénticamente con los mismos productos y que más tarde recibieron una inoculación artificial (5).

La diferencia en edad, el stress del clima tropical, el intervalo entre la vacunación y la inoculación, pueden ser factores de

bilitantes. La demora en la respuesta serológica en las terneras inoculadas con la vacuna atenuada, sugiere que la vacuna usada fue de baja potencia.

También es posible que hayan ocurrido infecciones por babesia en algunas terneras. Si por ejemplo, ocurrieron babesiellosis y anaplasmosis simultáneamente, un aumento en los títulos a la fijación del complemento nos hubiera conducido a la conclusión de que la anaplasmosis estaba complicada, puesto que el descenso del hematocrito podía ser debido a la infección por babesia. Debe tenerse cuidado para prevenir esta suposición incorrecta, por la observación de otros signos de babesiellosis, tales como la hemoglobinuria y el examen de frotis de sangre coloreados, pero aun, bajo las condiciones prevalentes con infección natural, existe todavía la posibilidad de error.

Con base en los resultados obtenidos, únicamente la premunición con *A. marginale* virulento y el tratamiento, produjeron resultados satisfactorios. Ninguna de las vacunas aplicadas dio protección efectiva a los animales.

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Veinte terneras de tres meses de edad fueron divididas en cuatro grupos iguales. El Grupo I fue inoculado con *Anaplasma marginale* atenuado, el Grupo II recibió una vacuna de *Anaplasma marginale* con adyuvante, el Grupo III fue infectado con *A. marginale* seguido de tratamiento y el Grupo IV permaneció como control sin vacunar. Todos los animales fueron llevados a una zona endémica tres meses después y se les permitió la infección natural de campo. Se observó evidencia de anaplasmosis aguda en todas las terneras, a excepción de las que estaban premunizadas con *A. marginale* virulento. No se produjo ninguna evidencia significativa de protección por el *A. marginale* atenuado o por la vacuna con adyuvante, cuando se comparó con los controles sin vacunar. El grupo premunizado con *A. marginale* atenuado o por la vacuna con adyuvante, cuando se comparó con los controles sin vacunar. El grupo premunizado con *A. marginale* virulento no respondió a la exposición natural.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. HIDALGO, R.J. y G.T. DIMOPOULLUS. 1967. Complement-Fixation Micro-Procedures for Anaplasmosis. *Am. J. Vet. Res.* 28: 245.
2. RISTIC, M. 1962. A Capillary Tube-Agglutination Test for Anaplasmosis. A Preliminary Report. *J. A. V. M. A.* 141: 588.
3. SNEDECOR, G.W. 1957. *Statistical Methods*. 5th Edition, The Iowa State College Press, Ames, Iowa.
4. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 1958. A Manual for Conducting the Complement-Fixation Test for Anaplasmosis. Washington 25, D.C.
5. ZARAZA, II. y K.L. KUTTLER. 1969. Respuesta Hematológica y Clínica a Diferentes Vacunas de Anaplasmosis y la Eficacia Comparativa de estas, evaluadas por la Inoculación Experimental. *Revista ICA* (en prensa).