

DESARROLLO Y UTILIZACION DE VACUNAS CONTRA
BOOPHILUS MICROPLUS, BABESIOSIS Y ANAPLASMOSIS,
PERSPECTIVA ACTUAL EN URUGUAY

A. Nari¹
M. D. Solari²

RESUMEN

El desarrollo y utilización de vacunas eficaces e inocuas para prevenir enfermedades parasitarias, ha sufrido más fracasos que éxitos. Los insucesos a nivel mundial se han debido principalmente a la complejidad antigénica de los agentes etiológicos, a la ausencia de una tecnología capaz de obtener antígenos en cantidad y calidad y a un insuficiente conocimiento de las reacciones inmunológicas provocadas en el huésped. La utilización de técnicas biotecnológicas de punta en la identificación, caracterización y producción de inmunógenos provenientes de parásitos complejos, es uno de los grandes desafíos de la presente década. Dentro de este marco de referencia, el trabajo presenta a los hemoparásitos de mayor incidencia económica en bovinos del Uruguay, como una meta en la utilización de diferentes tipos de vacunas. Así mismo, se plantea el estado actual de desarrollo de una vacuna de subunidad, para el control del *Boophilus microplus*.

INTRODUCCION

El desarrollo de vacunas, eficaces inocuas y suficientemente prácticas para la prevención del síndrome enfermedad ha sido un permanente desafío en Salud Pública y Animal. El desarrollo de modernas vacunas y el mejoramiento de las actuales, podría tener lugar mas aceleradamente en el campo de la Salud Animal que en la humana debido fundamentalmente a (30):

- Menores restricciones éticas y costos para la ejecución de pruebas de efectividad. Esto incluye la utilización de microorganismos patógenos.

¹ DMV, BSc, MSc. Técnico del C.I.VET. "Miguel C. Rubino"

² DMV. Técnico del C.I.VET. "Miguel C. Rubino"

- Mayor flexibilidad en las pruebas de inocuidad relativa a la pureza del inmunógeno, utilización de adyuvantes y potenciadores de la respuesta inmune.
- Mejor disponibilidad para manipular grandes poblaciones experimentales con menor intervalo generacional que en el humano.
- Mayor y más rápida repercusión económica en caso de un desarrollo exitoso.

No obstante esto, el desarrollo de vacunas eficientes a nivel veterinario y específicamente en el área parasitológica ha tenido más fracasos que éxitos.

Esto ha sido debido principalmente, a la complejidad antigénica de los agentes etiológicos parasitarios, a la ausencia de una tecnología capaz de obtener antígenos de calidad y a la falta de suficientes conocimientos sobre reacciones inmunológicas provocadas en el huésped.

Estos inconvenientes podrían ser sobrellevados a través de la utilización de técnicas biotecnológicas de avanzada, las cuales tendrán que ser aplicadas dentro de una adecuada planificación de recursos humanos, físicos y financieros (26).

Un avance de esta naturaleza, no es tarea fácil en países en vías de desarrollo como Uruguay, cuya realidad socio-económica ha limitado la formación y permanencia de una masa crítica altamente especializada y con suficientes recursos para trabajar.

Nuestra profesión, seguramente es conciente de la gran brecha tecnológica que se está produciendo con el mundo desarrollado, en donde el conocimiento de la producción de vacunas, es cada vez menos universal, con un patentado extensivo de métodos y productos (13).

Dentro de este marco general de referencia, el trabajo intentará revisar el estado actual del desarrollo y utilización de vacunas contra *Babesia* spp, *Anaplasma* spp y *B. microplus* así como sus posibilidades de aplicación en el Uruguay.

I. PRIORIDADES PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS EN PARASITOLOGIA

Los requisitos a considerar para evaluar la eficiencia de las vacunas existentes, así como para visualizar donde es necesario desarrollar nuevas técnicas de aplicación pecuaria incluye:

- I.1 Reconocimiento de qué agente etiológico es realmente patógeno y produce pérdidas de producción en especies animales de importancia económica.
- I.2 Ausencia de medidas no inmunogénicas adecuadas para el control de enfermedades causadas por uno o varios agentes etiológicos.
- I.3 Capacidad del parásito para incluir una protección sólida, sin riesgos para la vida productiva animal (eficacia e inocuidad).
- I.4 Capacidad técnica para obtener antígeno(s) estables y económicos en cantidad/calidad.
- I.5 Posibilidad de desarrollar un protocolo de vacunación práctico, capaz de ser aplicado en el manejo tradicional de nuestros establecimientos.

Una rápida revisión de estos enunciados en relación a la historia del desarrollo y utilización de vacunas contra *Babesia* spp y *Anaplasma* spp (aún no son operativas las vacunas de *B. microplus*) permite determinar los principales problemas que presentan los inmunógenos actuales.

Dependiendo del tipo de vacunas, las mayores desventajas imputables a su utilización son su falta de estabilidad (numeral I.4); inocuidad (numeral I.3); potencialidad de introducir otros patógenos (numeral I.4) y en algunos casos su incapacidad para producir respuestas protectoras eficaces (numeral I.3).

II. IMPORTANCIA DE LA UTILIZACIÓN DE VACUNAS

En nuestro país la necesidad de mantener un Servicio Oficial de producción de vacunas contra hemoparásitos así como de contar con una vacuna en apoyo al control de garrapatas se fundamenta en los siguientes conceptos:

II.1 Estabilidad e inestabilidad enzoótica

La sola presencia de los agentes etiológicos de la tristeza parasitaria del bovino (TPB), no justifica que en un área o establecimiento se tenga que instaurar un plan de vacunación. Esto es particularmente cierto en países cuyas condiciones climatológicas permiten el desarrollo de 4 o 5 generaciones de *B. microplus*.

Supongamos por un momento, que el clima de nuestro país, no fuera una limitante en la producción anual de muchas generaciones de garrapatas.

Esto permitiría que prácticamente todo el rodeo del establecimiento sea "picado" e inmunizado a edad temprana (4-9 meses) que es el momento donde existe una mayor resistencia natural a la TPB (figura 1). Esta situación, es considerada en la parte superior de la figura y se conoce como estabilidad o equilibrio enzoótico, (corresponde a una serología positiva > 75%).

Cuando se comienzan a utilizar acericidas las poblaciones de terneros que se inmunizarán naturalmente contra TPB disminuirá proporcionalmente aumentando el riesgo de enfermedad en el rodeo, (corresponde a una serología positiva entre el 25-75%). Esta es la etapa conocida como desequilibrio enzoótico y la más peligrosa para los intereses del productor.

Cuando el control de garrapatas a nivel de establecimiento, es eficiente en el tiempo, se llega a una situación en que las poblaciones parasitarias no inmunizarán naturalmente a todo el rodeo pero tampoco se constituirán en un desafío suficiente como para provocar enfermedad, quedando el rodeo nuevamente en equilibrio enzoótico, (corresponde a una serología positiva entre el 0-25%).

Utilizando estos principios básicos, se puede razonar cual es la situación real de un país como Uruguay que se encuentra enteramente en clima templado (30°-34° Lat. Sur) en donde solamente se pueden desarrollar 2,5-3 generaciones de garrapatas (país marginal para el desarrollo de *B. microplus*).

Como lo muestra la figura 2 las poblaciones de garrapata que se producen en nuestro país, no son suficientes durante los primeros 9 meses de vida como para producir una inmunización natural a todo el rodeo. Esto es debido a que el invierno, actúa sobre las poblaciones en refugio, disminuyendo espontáneamente en un 40% el número de generaciones de garrapatas que se podrían producir.

La consecuencia práctica de esta situación, es que existirá una tendencia a nivel de área, a que los rodeos se encuentren en desequilibrio enzoótico y en riesgo de producir brotes de TPB (26) (40).

Los resultados generados por el CIVET "Miguel C. Rubino" a partir del año 1981 (figura 3), están indicando que la gran estacionalidad del *B. microplus* es la principal causa de que la TPB tenga una casuística clínica de presentación aguda por falta de inmunidad natural en los rodeos. Este es el caso por ejemplo de las Babesiosis, que se presentan con un 2,5% de morbilidad, un 1,6% de mortalidad y un 46% de letalidad (40).

II.2. Apoyo a campañas sanitarias

Todo programa de control y/o erradicación de la garrapata necesita contar con la infraestructura necesaria para producir una vacuna de aplicación económica (38). En Uruguay la legislación existente desde comienzos de siglo, ha asumido la responsabilidad de controlar y erradicar la garrapata. (Leyes 3606; 9965 y 12293). Esta ha sido la idea básica, que motivó la creación

de un Servicio Oficial de producción de vacunas contra la TPB a partir del año 1941 (Decreto 25-07-41).

Actualmente todas las acciones previstas al sur del país, dentro del marco del Proyecto 840/Sanidad Animal/BID, prevén si fuera necesario, la implantación de un plan de vacunación a nivel de establecimiento, para solucionar problemas de inestabilidad enzoótica.

II.3 Nuevos métodos de control de garrapatas

Uruguay cuenta con un stock de 9:500.000 bovinos, la mayoría de origen europeo y en riesgo de estar infestado por *B. microplus*.

La utilización de ganado resistente (*Bos indicus* o sus cruces) además de otras medidas inmunogénicas que aumentan la protección del ganado susceptible pueden disminuir la dependencia a los productos químicos y el riesgo de aparición de quimio-resistencia.

Dichas medidas deben ser tomadas dentro del marco epidemiológico donde se desarrolla el *B. microplus* y si es necesario como complemento a la acción de los productos acaricidas (figura 4).

III. VACUNAS CONTRA HEMOPARASITOS

En esta sección se describirán las vacunas actualmente en uso o en desarrollo, así como sus principales ventajas y/o desventajas. Los tipos de vacunas y prácticas de inmunización utilizadas actualmente contra los agentes productores de la TPB son extremadamente variados. Estos van desde su producción "artesanal" sin casi conocimiento del hemoparásito(s) utilizado, hasta las más modernas vacunas en desarrollo que utilizan antígenos solubles o su expresión genómica a través de vectores.

A los efectos de abordar las posibles fuentes antigénicas que podrían ser desarrolladas en nuestro país, se utilizará el esquema propuesto en el cuadro 1.

III.1 Babesiosis bovina

III.1.1 Antígenos viables: Su utilización se ha basado en el concepto clásico de "premunición" el cual establecía que la producción de anticuerpos protectores era mínima, siendo necesaria la presencia de organismos vivos para prevenir la aparición de TPB (39). Hoy día se ha comprobado la importancia de los anticuerpos protectores en los mecanismos de defensa del huésped (19). Cuando se utiliza organismos vivos, se puede hablar con seguridad de un tipo de inmunidad coinfecciosa, en donde coactúan los propios antígenos del parásito y productos solubles provenientes de su disolución y/o excreción.

La utilización de antígenos viables no atenuados, extraídos de bovinos portadores y cuya respuesta biológica no se conoce, es una tecnología actualmente superada la cual debe ser desestimulada (cuadro 2).

Algunas de sus desventajas son la falta de un exacto conocimiento de los hemoparásitos que están actuando, de su virulencia, del grado de parasitemia en el portador de campo y de su potencialidad para transmitir otros patógenos (ej. Fiebre Aftosa, Leucosis, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Brucelosis, etc.). Esta última, es la principal desventaja de los sistemas que se basan en antígenos viables.

La utilización de antígenos viables no atenuados a través de dosis mínimas infestantes, implica el aislamiento del hemoparásito, el conocimiento de su virulencia y un cálculo de la dosis de vacunación buscando la mayor inocuidad posible. Esta práctica ha sido utilizada para *B. bovis* y *B. bigemina* (13) (42) (43). Su utilización no está exenta de riesgos, sobre todo en el período de patencia donde los animales tienen que ser tratados y las reacciones pueden

presentarse con un alto grado de variación. En este sentido, es necesario recordar que:

- su utilización masiva a nivel de campo, implica la inoculación de hemoparásitos virulentos en distintos ecosistemas, donde las variaciones de razas, edades, estado fisiológico/reproductivos, nutricionales y de manejo son la regla.
- nuestro profesional muchas veces inocula la vacuna pero no controla directamente la reacción, que es el momento realmente crítico del proceso biológico.

Las vacunas que utilizan antígenos viables no atenuados no cumplen los requisitos de eficacia, inocuidad y practicidad y el éxito final dependerá de variables que son difíciles de estandarizar y que están relacionadas al grado de responsabilidad y conocimiento humano.

La aplicación de antígenos viables atenuados, es uno de los caminos del que se ha venido utilizando desde hace varias décadas. El término "atenuación" ha sido puesto en duda para este tipo de vacuna ya que ello implica mutación y estabilidad genética.

Una posibilidad de atenuación es a través de la irradiación de eritrocitos infestados por *B. bovis* y *B. bigemina* (20) (49) (45).

Este método ha demostrado conferir una buena protección contra cepas homólogas y heterólogas a nivel experimental. Las principales desventajas por lo cual no es operativo son las siguientes:

- las facilidades para realizar la irradiación en forma rutinaria no siempre están disponibles en países en vías de desarrollo.
- existe la probabilidad de que el genoma del hemoparásito varíe, sin conocer las consecuencias.
- es posible que se produzca la destrucción de algunos parásitos por irradiación así como una insuficiente atenuación.

La utilización de vacunas anti *B. bovis* atenuadas por pasajes rápidos y consecutivos es una práctica común en Australia, Sudáfrica, Israel, Argentina y Uruguay (32) (25), siendo el método recomendado por FAO para la inoculación masiva de bovinos (9). Sus principales ventajas son la posibilidad de producir partidas prácticamente ilimitadas y el desarrollo de buenos niveles de inmunidad. Dicha vacuna ha sido utilizada en forma continua en Uruguay desde 1977, produciéndose en estos últimos diez años un total de 153.498 dosis sin que se haya constatado pérdida del poder inmunógeno (pasaje N° 35), aumento de virulencia o capacidad para ser transmitida por *B. microplus*, (figura 5).

La utilización de vacunas anti *B. bigemina* atenuadas por pasajes lentos a través de terneros no esplenectomizados es otra práctica generalizada, sin embargo su producción presenta mayores dificultades ya que la atenuación es cepa dependiente y no siempre se logran porcentajes de parasitemia adecuados para lograr una vacuna medida (32).

Nuestro país dispone de un inmunógeno atenuado de *B. bigemina* (pasaje N° 6) que ha sido utilizado desde el año 1981. Hasta el momento se han producido un total de 102.006 dosis preparadas en forma bivalente o trivalente.

Si bien este método ha demostrado ser operativo, su principal riesgo es la transmisión de otros patógenos. Esta posibilidad ha sido confirmada al ser detectado en Australia el virus de Leucosis bovina en un dador de A. centrale (37).

Es posible atenuar cepas de campo a través de cultivo "in vitro" de eritrocitos en presencia de suero equino y bovino (51).

Un paso más en la seguridad que ofrece la vacuna viva, es su almacenamiento en estado congelado. Esto permite una prueba de inocuidad para otros patógenos antes de su utilización en campo.

Sin embargo el costo de producción y almacenamiento es considerablemente más

alto y cada dosis de vacuna debe de producirse con una mayor concentración de parásitos a la convencional (32). A este inconveniente se debe agregar el hecho de que la vacuna debe ser transportada en forma congelada y ser descongelada en el momento de su aplicación (estabilidad y operatividad).

III.1.2 Antígenos no viables: La utilización de antígenos no viables como inmunógenos en babesiosis es a la luz de los conocimientos actuales la tecnología más prometedora para el futuro (cuadro 1). No obstante esto, resta aún mucho camino para recorrer en términos de obtener una vacuna que cumpla con los requisitos anteriormente señalados.

La naturaleza del antígeno protector y su producción son sin duda, los factores más importantes a investigar en el desarrollo de estas vacunas.

Debido a las dificultades que existen para conocer la naturaleza del antígeno (s) protector e identificarlo de otros no protectivos es que el desarrollo de este tipo de vacunas ha tomado algunos caminos colaterales como:

- la utilización de antígenos crudos (componentes particulados y solubles de eritrocitos infectados) para comprobar si la presencia de fracciones protectoras comunes confieren inmunidad contra desafíos heterólogos (21).
- la utilización de sistemas adaptados al cultivo de *B. bovis* y *B. bigemina* (figura 6) que permitan obtener fuentes antigénicas como los extratos de merozoitos y otras fracciones solubles libres de componentes eritrocíticos (exoantígenos) (18) (44).

Las pruebas de protección utilizadas con estos exoantígenos, han mostrado su capacidad de promover anticuerpos protectores contra *B. bovis* y *B. bigemina*, los cuales podrían ser combinados en forma estable en una vacuna liofilizada, de producción relativamente económica y que no produzca reacciones post vacinales (17) (23).

La utilización de este tipo de vacunas presentan hoy día algunos interrogantes que es necesario puntualizar:

- no han logrado proveer una inmunidad similar a la producida por babesias vivas derivadas de bovinos o cultivos celulares (41).
- su producción rutinaria puede tener algunos problemas en países en vías de desarrollo, como puede ser la falta de capacidad para cumplir con una gran demanda de vacuna, problemas de contaminación y compra de reactivos en plaza (22) (26).
- su utilización masiva en distintos ecosistemas y diferentes desafíos de *Babesia* spp, podría crear problemas de especie-especificidad ya que su composición antigénica es más restricta que en las vacunas vivas. Por lo menos en *B. bovis*, ha sido demostrado que existe más de un antígeno capaz de conferir protección en el huésped (22).

Un paso de gran importancia, es la obtención de vacunas a través de técnicas de recombinación del ADN. Proteínas inmunogénicas han sido obtenidas de *B. bovis* y *B. bigemina*, lo que permite pensar que en un mediano plazo se podría disponer de vacunas seguras y a un costo razonable para el productor.

No obstante esto, será difícil encontrar la tecnología apropiada para organismos que, como *Babesia* spp tiene varios estados en su ciclo y cada uno de ellos con una respuesta inmunitaria compleja (32). No es claro en este momento, si un solo antígeno protector sea suficiente para conferir una buena inmunidad frente a desafíos con cepas de campo. Una dificultad adicional, puede ser la presencia de sub poblaciones dentro de una misma cepa con distintas características moleculares y biológicas (12).

III.2 Anaplasmosis bovina

III.2.1 Antígenos viables: La utilización de *A. marginale* virulento es una práctica todavía común, siendo utilizada principalmente en animales jóvenes, los que deben ser rigurosamente controlados y acompañados de un tratamiento terapéutico oportuno (cuadro 1).

La utilización de sangre proveniente de portadores crónicos de *A. marginale* también se utiliza con inóculo consolidante de inmunidad, en animales previamente inoculados con *A. centrale*.

El uso de inmunógenos que utilizan *A. marginale* sin conocimiento de su biología presenta serios inconvenientes, debidos a:

- la virulencia de algunas cepas de campo.
- las recaídas de parasitemia en portadores crónicos, cuya sangre será utilizada en el proceso de inmunización.

La utilización de cepas virulentas con distintos grados de conocimiento de su biología, ha sido propuesta para disminuir el peligro de las reacciones post vacinales antes mencionadas.

Este tipo de sistema, utiliza dadores en etapa aguda sus cepas conservadas en nitrógeno líquido y la vacuna producida a través de diluciones de los eritrocitos infestados (16).

Un inconveniente importante desde el punto de vista epidemiológico es que los rodeos inoculados pueden perpetuar en el tiempo al *A. marginale* virulento (43).

La utilización de cepas de *A. marginale* más benignas, ha demostrado su eficacia y mayor inocuidad cuando se utiliza en bovinos mayores de 8 meses. La protección conferida es fuerte, aunque menor a la producida con inmunógenos virulentos (16).

La utilización de este tipo de vacuna presenta algunos riesgos, especialmente cuando es utilizada en ganado lechero, animales en malas condiciones fisiológicas o cuando luego de la vacunación, se producen sobreinfecciones (34) (16).

En la década de los sesenta se ha modificado un aislamiento de *A. marginale* virulento por irradiación y pasaje seriado en otras especies animales (35). Dicha cepa presenta características inmunológicas similares al *A. marginale* de origen. Por ser de origen ovino, esta vacuna presenta la ventaja de no promover la formación de iso anticuerpos en las hembras y de isoeritrolisis en los terneros (32).

Su utilización en algunos países ha sido discontinua debido a insucesos post vacinales producidos, principalmente en ganado lechero (4). Las mayores precauciones deben tomarse en ganado en producción y preñados, en el último tercio la gestación.

La vacunación con *A. centrale*, un organismo heterólogo, antigenicamente relacionado y relativamente benigno, ha sido utilizada por lo menos en Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela. Fuera de la región, los principales productores de este inmunógeno son Australia y Sud Africa quienes utilizan alrededor de 400.000 dosis anualmente (9).

Uruguay ha estado utilizando *A. centrale* desde 1960, produciéndose en los últimos diez años un total de 255.504 dosis, (figura 5) (29) (25).

El inóculo corresponde a cantidades conocidas de eritrocitos infestados (EI), libre de la serie blanca y es suspendido en hemodiluyente (8).

La vacuna confiere protección parcial contra desafíos virulentos de *A. marginale*, pero existe evidencia como para afirmar que es eficaz para reducir la severidad de la anaplasmosis y prevenir muertes (7) (33).

Para que *A. centrale* confiera inmunidad, es necesario mantener los animales vacunados el tiempo suficiente (usualmente 60 días) evitando que el inicio del desafío por garrapata sea muy intenso (25).

Ultimamente se ha realizado la conservación de vacunas vivas a través del congelamiento, a los efectos de favorecer su transporte y producir reacciones homogéneas (31).

Este método ha demostrado ser efectivo para la producción de vacunas congeladas como la que actualmente comercializa Argentina.

III.2.2 Antígenos no viables: Como en el caso de *Babesia spp* se ha comprobado la existencia de inmunidad estéril para *A. marginale*, la cual persiste luego de eliminado el hemoparásito (cuadro (1) (36) (27)).

La utilización de antígenos no viables combinada con adyuvantes se ha usado rutinariamente en EEUU y en forma esporádica en el trópico y áreas templadas. Actualmente se considera que este tipo de inmunógeno confiere una inmunidad insuficiente y que su utilización repetida puede provocar isoeritrólisis neonatal y mortalidad de terneros (16).

La calidad y pureza del antígeno que posea los epítopes antigénicos capaces de conferir inmunidad, son los mayores desafíos técnicos en la producción de una nueva generación de vacunas contra *A. marginale* (figura 6).

Recientemente, se han incentivado los estudios utilizando técnicas de ingeniería genética, lográndose un mejor conocimiento del genoma y la separación de antígenos de distintos pesos moleculares (3) (1). La utilización de la técnica de anticuerpos monoclonales, ha posibilitado la identificación de un epítipo antigénico común (peso molecular 105 D) que es capaz de proteger contra un desafío de *A. marginale* virulento (28). La inmunización con un complejo proteínico proveniente de la superficie del *A. marginale* y que contenía básicamente dos polipéptidos (AM 105U y AM 105I) también fue capaz de proteger contra el desafío de organismos virulentos (6).

IV. VACUNA CONTRA BOOPHILUS MICROPLUS

Los métodos que existen actualmente para luchar contra el *B. microplus*, están dirigidos a afectar alguna de las tres fases de su ciclo biológico: parasitaria, de encuentro con el huésped y evolutiva en las pasturas, (figura 7).

Lamentablemente muchos de estos métodos no han pasado de la etapa experimental, manteniéndose la aplicación de acaricidas en sus diferentes formulaciones y la utilización de ganado resistente (*Bos indicus*) como los únicos métodos eficientes para el control de garrapatas a nivel mundial (11).

Desde el punto de vista de su aplicación a campo, estos otros métodos (predadores utilización de híbridos estériles, feromonas y distintos métodos de manejo de pasturas) presentan dos problemas que han impedido su generalización:

- falta de suficiente conocimiento básico de los mecanismos por los cuales se afecta el comportamiento de las garrapatas, su fisiología y relación huésped-parásito.
- la imposibilidad de utilizarlos en grandes poblaciones de garrapatas o en extensas áreas ecológicas, como es usual en campañas sanitarias de control.

Salvo la utilización del ovino que puede tener un potencial en el control de *B. microplus*, Uruguay no cuenta con otra alternativa que la utilización de acaricidas para el combate de garrapatas. Esta afirmación está fundamentada por la escasa difusión a nivel nacional de razas *B. indicus* y sus cruces, lo que hace esperar que por lo menos en un mediano plazo esta opción no sea factible.

Vale entonces auscultar sobre otros posibles métodos de control, que tengan una flexibilidad de aplicación similar a los acaricidas y conocer en que etapa de desarrollo se encuentran.

En términos genéricos se puede decir que, los caminos actuales por donde pasa el desarrollo y experimentación de la vacuna contra garrapatas son dos:

- la inmunidad puede ser producida por antígenos del *B. microplus* que naturalmente estén en contacto con el huésped. Esto es fundamentalmente cierto en el desarrollo de resistencia natural, donde se producen fenómenos de hipersensibilidad, a nivel de las picaduras de garrapatas. Sin embargo, la utilización de antígenos contenidos en secreciones salivares o en general en el proceso de alimentación de las garrapatas, limita la búsqueda de "antígenos protectivos" (48).

- la inmunidad puede ser producida por antígenos del *B. microplus* que no estén naturalmente en contacto con el huésped. Este camino implica la utilización de antígeno(s) contra los cuales el bovino nunca desarrolla inmunidad natural. A estos antígenos se denominan "ocultos" ya que solamente el animal vacunado, puede dirigir su sistema inmunitario contra antígenos que nunca hubiera podido reconocer por no haber tenido contacto con ellos (46).

Este es precisamente el camino elegido por el CSIRO de Brisbane, Australia (División Tropical de Producción Animal) quien es el que ha comenzado los trabajos pioneros para el desarrollo de una vacuna. Dichos trabajos demostraron que gran parte de la inmunidad en animales vacunados con extractos crudos de garrapatas semi-ingurgitadas, va dirigida a destruir células del ciego de garrapatas adultas (24).

IV.1 Identificación y purificación antigénica

A partir de extractos crudos o semipurificados de ciego, se produjeron fracciones las cuales fueron probadas a través de bovinos vacunados y posteriormente desafiados con garrapatas (47). Finalmente se identificó y purificó una glicoproteína perteneciente a la membrana de células superficiales del ciego, cuyo grado de protección fue similar a la producida por extractos crudos o semi-purificados (figura 8) (48).

IV.2 Producción del antígeno recombinante

Debido a la escasa disponibilidad de la glicoproteína en la membrana de las células del ciego, es necesario 50.000 hembras adultas (aproximadamente 1.200 gr) para producir 100 microgramos de antígeno, lo que hace imposible cualquier intento de producción comercial.

En el momento existen dos posibilidades de producir este antígeno en gran escala, la utilización de cultivos celulares de garrapatas o su síntesis a través de la tecnología del ADN recombinante.

El trabajo en equipo entre el CSIRO y Biotechnology Australia, ha permitido identificar el gene que codifica su producción, clonarlo en *E. coli* y producir la proteína recombinante (70 kD) en cantidad suficiente (46) (50).

Si bien *E. coli* no reproduce un duplicado exacto del antígeno original, es suficientemente cercano como para producir una buena inmunidad cuando el ganado es vacunado (48).

Esta ha sido la primera vez que se ha logrado proteger animales contra artrópodos chupadores de sangre utilizando técnicas de ADN recombinante.

IV.3 Acción de la vacuna sobre *B. microplus*

Los estudios realizados hasta el momento, no demuestran acción de la vacuna sobre las larvas que se alimentan en el bovino (15). Su efecto está dirigido principalmente a garrapatas adultas, las cuales comienzan a verse afectadas dentro de las 24-72 horas de efectuar su muda. El aumento de garrapatas muertas o visiblemente afectadas es lento, cerca de 5 días hasta que comienza la etapa final de ingurgitamiento (14).

La reacción inmunológica produce en las garrapatas adultas una lisis en la pared del ciego, la cual aumenta su permeabilidad permitiendo pasaje de sangre a la hemolinfa (2) (47). Muchas de las garrapatas afectadas, desarrollan una coloración rojiza la cual es particularmente visible en sus extremidades. El control final de la vacuna (aproximadamente un 90%) se produce por muerte de adultos o por una disminución de su peso final con una postura de huevos muy afectada.

La inmunidad demostrada en condiciones experimentales, puede ser mantenida por un año.

Si bien no se debe excluir completamente un efecto celular concomitante, en

el proceso de destrucción de las paredes del ciego, se ha comprobado que la acción de anticuerpos (principalmente Ig G) es por si sola capaz de producir la lisis inicial (48).

Las principales diferencias entre la vacunación con el antígeno recombinante y la desarrollada naturalmente por el bovino contra las garrapatas son sumarizadas en el cuadro 3. Dichas características diferenciales, podrían ser utilizadas en el diseño de programas de control que integren ambas herramientas de combate del B. microplus.

V. DISCUSION

Ningún parasitólogo, virólogo o bacteriólogo puede negar que la "vacuna ideal" sería aquella que además de eficaz, inocua y económica, sea estable, incapaz de producir efectos secundarios o introducir otros patógenos.

Por lo menos en teoría, estas son ventajas que ofrecen algunas de las más modernas áreas de la biotecnología y muy especialmente la ingeniería genética. Seguramente antes del fin de esta década tendremos en parasitología vacunas eficaces contra algunos nematodos, agentes productores de miasis, hemoparásitos y artrópodos de importancia veterinaria (26).

A pesar que los autores apoyan plenamente la generación, adaptación y/o adopción de la más moderna tecnología para el control de enfermedades parasitarias, es necesario reconocer que, esta debe ser aplicada dentro de una realidad socioeconómica que condiciona el desarrollo de tecnología y la permanencia de grupos humanos altamente calificados (5).

Resulta necesario entonces, realizar algunas consideraciones de carácter general, que están directamente relacionadas al desarrollo y utilización de vacunas del complejo Hemoparásitos - B. microplus.

V.1 Brecha Tecnológica

Debemos reconocer que la brecha tecnológica no solo existe entre países desarrollados y en vía de desarrollo, sino también dentro del propio subdesarrollo.

Nuestra realidad indica que si bien algunas instituciones de Latino América, están capacitadas para trabajar en técnicas de punta la mayoría sigue luchando para obtener un suministro adecuado de insumos elementales como forraje o el suministro adecuado de energía eléctrica.

Otro problema a considerar es el desarrollo y permanencia de una masa crítica profesional que sea capaz de interpretar, desagregar, adaptar y probar las innovaciones tecnológicas que se están produciendo.

Se objetará tal vez que los grandes investigadores del siglo XIX (Pasteur, Berthelot, Pierre y Marie Curie) trabajaban siempre con muy escasos recursos e hicieron comprobaciones de gran importancia. Nosotros pensamos que en las postrimerías del siglo XX donde los países y las compañías comerciales se asocian para desarrollar productos tecnológicos, los ejemplos citados anteriormente lejos de demostrar la fecundidad de la miseria, ilustran como las deficiencias humanas y materiales aumentarán la brecha tecnológica en el siglo XXI.

Dicho problema se hace patente cuando debemos tomar decisiones puntuales, sobre que tecnología utilizar en un momento y espacio determinado. La realidad actual, nos dice que estamos capacitados para producir vacunas atenuadas contra hemoparásitos y que poseemos un adecuado marco de conocimiento epidemiológico para la aplicación cualquier tipo de vacunas.

No obstante esto, es necesario que nuestra profesión se preocupe y colabore en la formación de una masa crítica que intervenga directamente en la producción de las más modernas vacunas biotecnológicas.

V.2 Paquete tecnológico

Es sabido que en todo el Uruguay coexisten *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. marginale*. Por tanto las nuevas propuestas tecnológicas deberán tender a solucionar un "paquete" de problemas. La producción de una vacuna biosintetizada solo contra *B. bovis* tendría un impacto global relativo ya que se seguirían utilizando para los otros hemoparásitos las vacunas vivas convencionales con sus riesgos.

Para el caso de la vacuna anti-*B. microplus*, no existen antecedentes a nivel mundial de su utilización en el control. Lo más criterioso en este caso, sería comprobar su comportamiento en el campo a la vez de comenzar a formar un equipo de profesionales (biólogos, bioquímicos, genetistas, veterinarios, etc.) capaces de iniciar trabajos sobre un "modelo de vacuna" que luego podría ser extendido a otras especies de garrapatas y agentes parasitarios de importancia veterinaria.

V.3 Utilización masiva

La utilización masiva de estos inmunógenos en distintos ecosistemas y condiciones infraestructurales, es un hecho que hay que considerar.

La gran mayoría de vacunas enumeradas en este artículo, no han pasado de la etapa experimental.

Es claro que muchas variables tienen que ser evaluadas a nivel de campo, para poder sustituir una tecnología de producción por otra. Esto incluye el comportamiento del inmunógeno en diferentes localizaciones geográficas, sistemas de manejo, razas de animales, tipos de pasturas y situaciones de estrés.

Para el caso de hemoparásitos, la propuesta que mejor se ha comportado en distintos ecosistemas han sido las vacunas vivas atenuadas de *Babesia* spp y la heteróloga de *A. centrale*. Es sugestivo el hecho que países como Australia, Sud Africa e Israel todavía sigan incluyendo *A. centrale* en su vacuna y que luego de ser inoculada a miles de bovinos nunca se haya observado una anaplasmosis natural debida a este hemoparásito (9).

Otros países como Brasil, que poseen importantes áreas de desequilibrio enzoótico están apoyando la producción inmediata y permanente de vacunas atenuadas de *Babesia* spp y heteróloga de *A. centrale* hasta que se disponga una nueva generación de vacunas para sustituirlas.

Para el caso de *B. microplus* es necesario aún conocer su eficacia frente a cepas geográficamente distantes y su comportamiento en diferentes ecosistemas y situaciones epidemiológicas.

SUMMARY

DEVELOPMENT AND USE OF VACCINES AGAINST BOOPHILUS MICROPLUS, BABESIOSIS AND ANAPLASMOSIS, PRESENT POSSIBILITIES IN URUGAY. The development and use of efficacious and harmless vaccines to prevent parasitic diseases has been quite unsuccessful.

World wide failures have been due mainly to the antigenic complexity of etiological agents, the absence of an appropriate technology able to obtain antigens of high quality and quantity and to a limited knowledge of the immunological reactions occurred in the host.

The present challenge today is the use of selected biotechnological techniques for the identification, characterization and production of immunogens from complex parasites.

Within this framework, this paper present those haemoparasites of higher economic importance in cattle in Uruguay, as a goal for the use of different types of vaccines. It also presents the actual development state of a subunit vaccine to control *Boophilus microplus*.

BIBLIOGRAFIA

1. ADAMS, J.H.; SMITH, R.D. and JUHLENSCHMIDT, M.S. (1986). Identification of antigens of two isolates of Anaplasma marginale using a western blot technique. American Journal of Veterinary Research. 47: 501-506.
2. AGBEDE, R. and KEMP, D.H. (1986). Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: histopathology, 16: 35-41.
3. AMBROSIO, R.E. and POTGIETER, F.T. (1987). The genome of *Anaplasma*. DNA base composition and DNA/DNA hybridization. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. 54: 63-65.
4. ANZIANI, O.S. et al (1981). Observaciones de campo y laboratorio sobre la inoculación de bovinos Holando Argentino con una cepa de Anaplasma marginale modificada y atenuada. Gaceta Veterinaria. 43: 962-974.
5. ARDILA, J. (1986). Discusión sobre algunas condiciones básicas para el éxito de un sistema de investigación y transferencia de tecnología. In Organización y principios básicos en investigación. CIAAB-CIVET. pp.1-19.
6. BARBET, A.F. (1987). Characterization of an immunoprotective protein complex of Anaplasma marginale by cloning and expression of the gene coding for polypeptide Am 105L. Infection and Immunity. 55: 2428-2435.
7. BIGALKE, R.D. (1980). Laboratory and field observations on the use of Anaplasma centrale as a vaccine against anaplasmosis. Zimbabwe Veterinary Journal. 11: 21-22.
8. CARDOZO, H. (1982). Producción de hemovacuna para el control de enfermedades transmitidas por Boophilus microplus. Congreso Argentino de Veterinaria. La Plata, Argentina. Bases para una Red de Colaboración entre Laboratorios de Diagnóstico Veterinario. Montevideo, Uruguay.
9. FAO (1984). Ticks and tick - borne disease control. A practical field manual. Tick - borne disease control. Volume II. Rome. pp. 445-456.
10. FAO (1987). Nuevos métodos de diagnóstico y producción de vacunas. Consulta de Expertos sobre la Política de Desarrollo Ganadero en América Latina y el Caribe. Brasilia, Brasil. 6-10 de abril.
11. GEORGE, J.E. (1987). Tecnología para la erradicación de garrapatas. Consulta de Expertos sobre la erradicación de garrapatas con referencia especial a las Américas y el Caribe, 22-26 Ciudad de México, México.
12. GILL, A.C. (1987). *Babesia bovis*: molecular and biological characteristics of clonal parasites lines. Experimental Parasitology. 63: 180-188.
13. GONZALEZ, E.F.; TODOROVIC, R.A. and THOMPSON, K.C. (1976). Immunization against anaplasmosis and babesiosis. Part I. Evaluation of immunization using minimum infective doses under laboratory conditions. Tropenmedizin und Parasitologie. 27: 427-437.

14. KEMP, D.H. et al. (1988). Immunization of cattle against Boophilus microplus using extracts derived from adult female ticks: feeding and survival of the parasite on vaccinated cattle. International Journal of Parasitology, 16: 115-120.
15. KEMP, D.H. (1989). Vaccination against Boophilus microplus: Localization of antigens of tick gut cells and their interaction with the host immune system. Experimental and Applied Acarology, 7: 43-58.
16. KUTTLER, K.L. (1980). Examen de las técnicas de inmunización contra anaplasmosis y babesiosis. Serie Salud Animal (IICA). Publicación Científica N° 1 pp. 281-301.
17. KUTTLER, K.L. et al. (1983). Cell culture - derived Babesia bobis vaccine: secuencial challenge exposure of protective immunity during a 6 month postvaccination period. American Journal of Veterinary Research 44: 1456-1459.
18. LEVY, M.G. and RISTIC, M. (1980). Babesia bovis: continuous cultivation in microaerophilous stationary phase culture. Science. 207: 1218-1220.
19. MAHONEY, D.F. (1964). Bovine babesiosis: an assessment of the significance of complement fixing antibody based upon experimental infection. Australian Veterinary Journal. 40: 369-375.
20. MAHONEY, D.F. et al. (1973). Babesia argentina: the infectivity and immunogenicity of irradiated blood parasites for splenectomized calves. International Journal of Parasitology. 3: 202-217.
21. MAHONEY, D.F. and WRIGHT, I.G. (1976). Babesia argentina: immunization of cattle with a killed antigen against infection with a heterologous strain. Veterinary Parasitology. 2: 273-282.
22. MAHONEY, D.F. (1983). Studies on the protection of cattle against Babesia bovis infection. 10th. Meeting of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Perth. Australia.
23. MONTENEGRO-JAMES et al. (1987). Bovine babesiosis: induction of protective immunity with culture - derived Babesia bovis and Babesia bigemina immunogens. Parasitology Research. 74: 142-150.
24. MORRISON, W.I. (1989). Immunological control of Ticks and Tick borne parasitic diseases of livestock. Parasitology 98: 569-585.
25. NARI, A.; M.A. y CARDOZO, H. (1979). Hemovacuna para el control de Babesia spp. y Anaplasma marginale en el Uruguay. Veterinaria (Montevideo) 15: 137-148.
26. NARI, A. (1988). Producción y aplicación de nuevas vacunas en el campo en relación a enfermedades parasitarias específicas. Consulta de Expertos sobre la aplicación de la Biotecnología en la Producción Pecuaria y la Sanidad Animal en los Países en Desarrollo. FAO. La Habana - Cuba. 7-10 de setiembre, p22.
27. PALMER, G.H. and Mc GUIRE, T.C. (1984). Immune serum against. Anaplasma marginale initial bodies neutralizes infectivity for cattle. Journal of Immunology. 133: 1010-1015.
28. PALMER, G.H. et al. (1986). Immunization with end isolate - common surface protein protects cattle against anaplasmosis. Science. 231: 1299-1302
29. PASTURINO, C.L. y QUIÑONES, C. (1963). Técnicas aplicadas en el servicio de premunición. MGA, CIVET "Miguel C. Rubino". 1: 1-16.
30. PENTON, E. (1988). Biotecnología y vacunas de uso veterinario. Consulta de Expertos sobre la aplicación de la Biotecnología en la Producción Pecuaria y la Sanidad Animal en los Países en Desarrollo. FAO. La Habana - Cuba. 7-10 de setiembre, p9.
31. PIPANO, E. et al. Frozen Anaplasma centrale vaccine against anaplasmosis in cattle. British Veterinary Journal. 142: 553-556.

32. PIPANO, E. (1989). Summing - up of strategies for tick - borne disease control as it applies to other regions of the world. Expert Consultation on Revision of strategies for the control of ticks and tick - borne diseases. Rome. Italy 25-29 setember, p18.
33. POTGIETER, F.T. (1983). Infectivity virulence and immunogenicity of Anaplasma centrale live blood vaccine. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. 50: 29-31.
34. RIBEIRO, M.F.; REIS, R. y PATARROYO, J. (1980). Avaliacao da vacina atenuada de Anaplasma marginale en bezerros mantidos em piquetes. Arq. Esc. Vet. UFMG. 32: 251-258.
35. RISTIC, M.; SIBINOVIC, S. and WELTER, J.C. (1968). An attenuated Anaplasma marginale. Proceedings 72nd. Meeting USLA. 59-69.
36. ROBY, T.O. et al (1974). Immunity in bovine anaplasmosis after elimination of Anaplasma marginale infections with Imidocarb. American Journal of Veterinary Research. 35: 993-995.
37. ROGERS, C.K. et al (1988). Bovine leucosis virus contamination of a vaccine produced in vivo against bovine babesiosis and anaplasmosis. Australian Veterinary Journal 65: 285-287.
38. RUBINO, M.C., (1946). Garrapata-tristeza-Premunición. En: Complicación de trabajos científicos del Dr. "Miguel C. Rubino", pp 113-131.
39. SERGENT, E. et al (1945). Etudes sur les piroplasmoses bovines. Institut Pasteur D'Algerie. p. 816.
40. SOLARI, M.A. (1987). Aspectos epidemiológicos de la babesiosis en Uruguay. Consulta de Expertos sobre la erradicación de garrapatas con referencia especial a las Américas y el Caribe, 22-26 Ciudad de México, p13.
41. TIMMS, P. et al (1983). Babesia bovis: comparison of culture derived parasites, non - living antigen and conventional vaccine in the protection of cattle against heterologous challenge. Australian Veterinary Journal. 60: 75-77.
42. TODOROVIC, R.A. and TELLEZ, C.H. (1975). The premunition of adult cattle against babesiosis and anaplasmosis in Colombia. South America. Tropical Animal Health and Production. 7: 125-131.
43. TODOROVIC, R.A.; GONZALEZ, E.F. and LOPEZ, G. (1970). Immunization against anaplasmosis and babesiosis. II. Evaluation of cryo-preserved vaccines using different doses and routes of inoculation. Tropenmedizin und Parasitologie. 29: 210-214.
44. VEGA, C.A. (1985). In vitro cultivation of B. bigemina. American Journal of Veterinary Research. 46: 416-420.
45. VIZCAINO, O. y URREGO, M. (1986). Immunopatología de una vacuna experimental bivalente de Babesia bovis y Babesia bigemina irradiada con Cobalto 60. XV Congreso de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bucaramanga, Colombia.
46. WILLADSEN, P. and KEMP, D.H. (1988). Vaccination with concealed antigens for tick control. Parasitology Today, 4: 196-198.
47. WILLADSEN, P. et al (1988). Isolation from the cattle tick Boophilus microplus of antigenic material capable of eliciting a protective response in the bovine host. Internal Journal of Parasitology 18: 183-189.
48. WILLADSEN, P. (1989). Perspectives for subunit vaccines for the control of ticks. Expert Consultation on Revision of Strategies for the Control of Ticks and Tick Borne Diseases. Rome 25-29 september 1989. p.6.

49. WILLADSEN, P. et al. (1989). Immunologic control of a parasitic arthropod. Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*. *The Journal of Immunology*. 143: 1346-1351.
50. WRIGHT, I.G. (1983). Nuclear techniques in babesiosis and anaplasmosis. *Proceedings of a Consultant's Meeting of the Joint FAO/IAEA. Division of Isotope and Radiation Application of Atomic Energy for Food and Agricultural Development. Vienna, Austria.*
51. YUNKER, C.E.; KUTTLER, K.L. and JOHNSON, L.W. (1987). Attenuation of Babesia bovis by in vitro cultivation. *Veterinary Parasitology*. 24: 7-13.

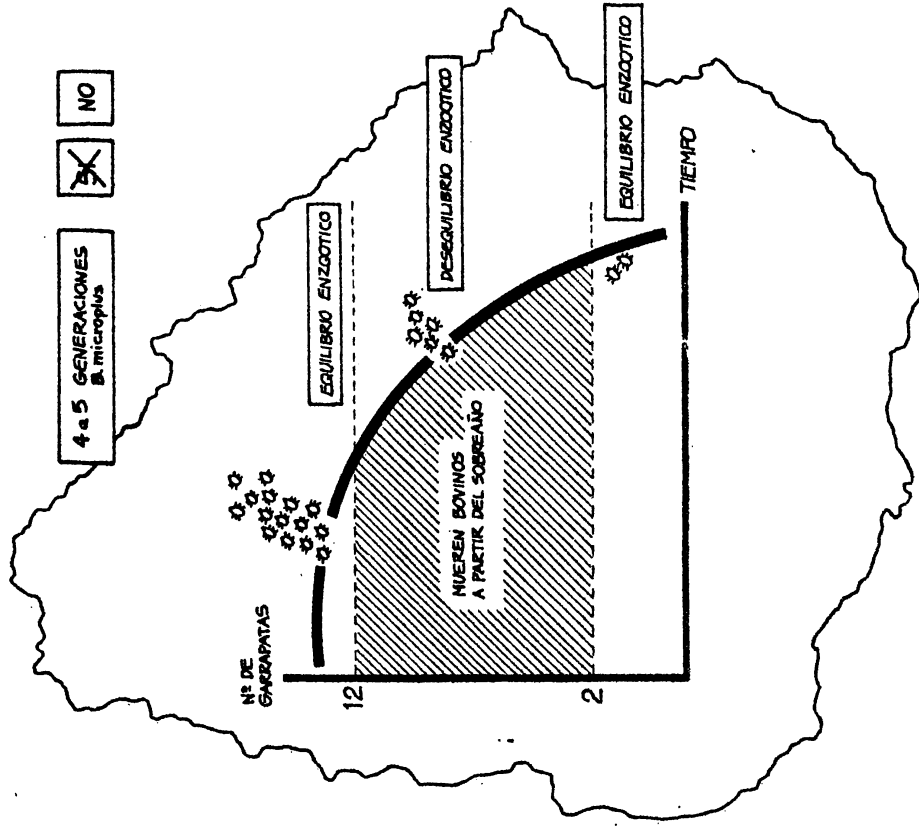


Fig. 1- EQUILIBRIO Y DESEQUILIBRIO ENZOOTICO DE HEMOPARASITOS DE ACUERDO CON EL CONTROL

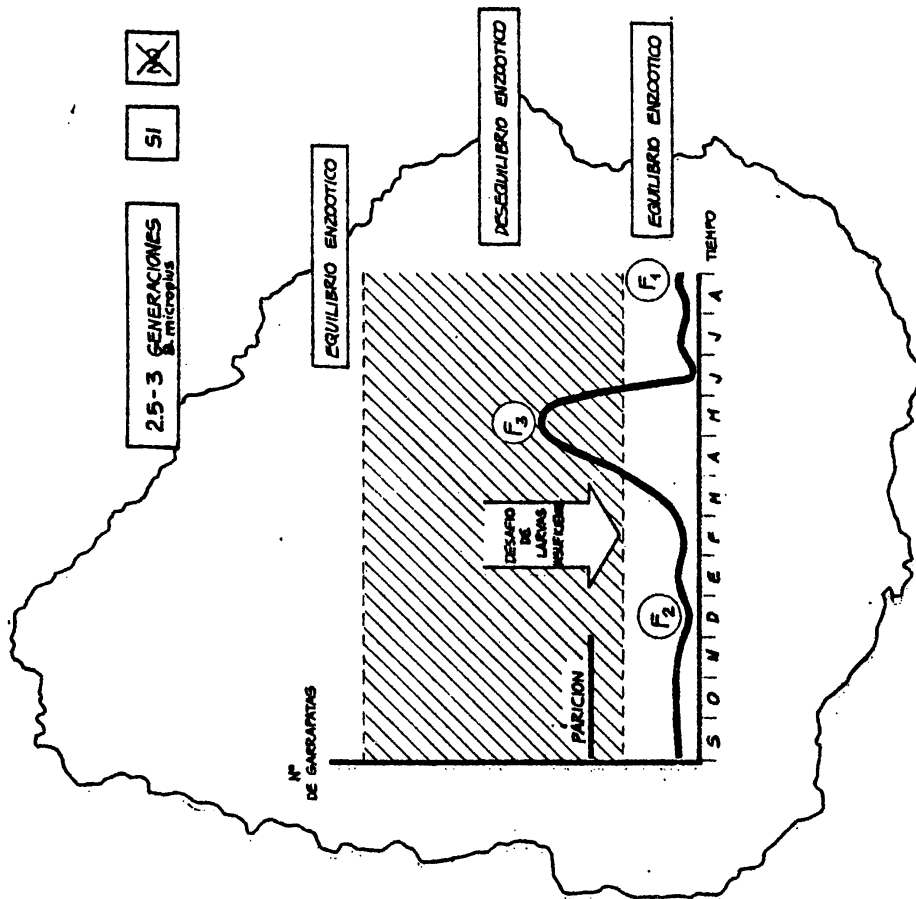


Fig. 2- EQUILIBRIO Y DESEQUILIBRIO ENZOOTICO DE HEMATOZOARIOS DE ACUERDO CON EL NUMERO DE GENERACIONES DE *B. microtopis* EN URUGUAY

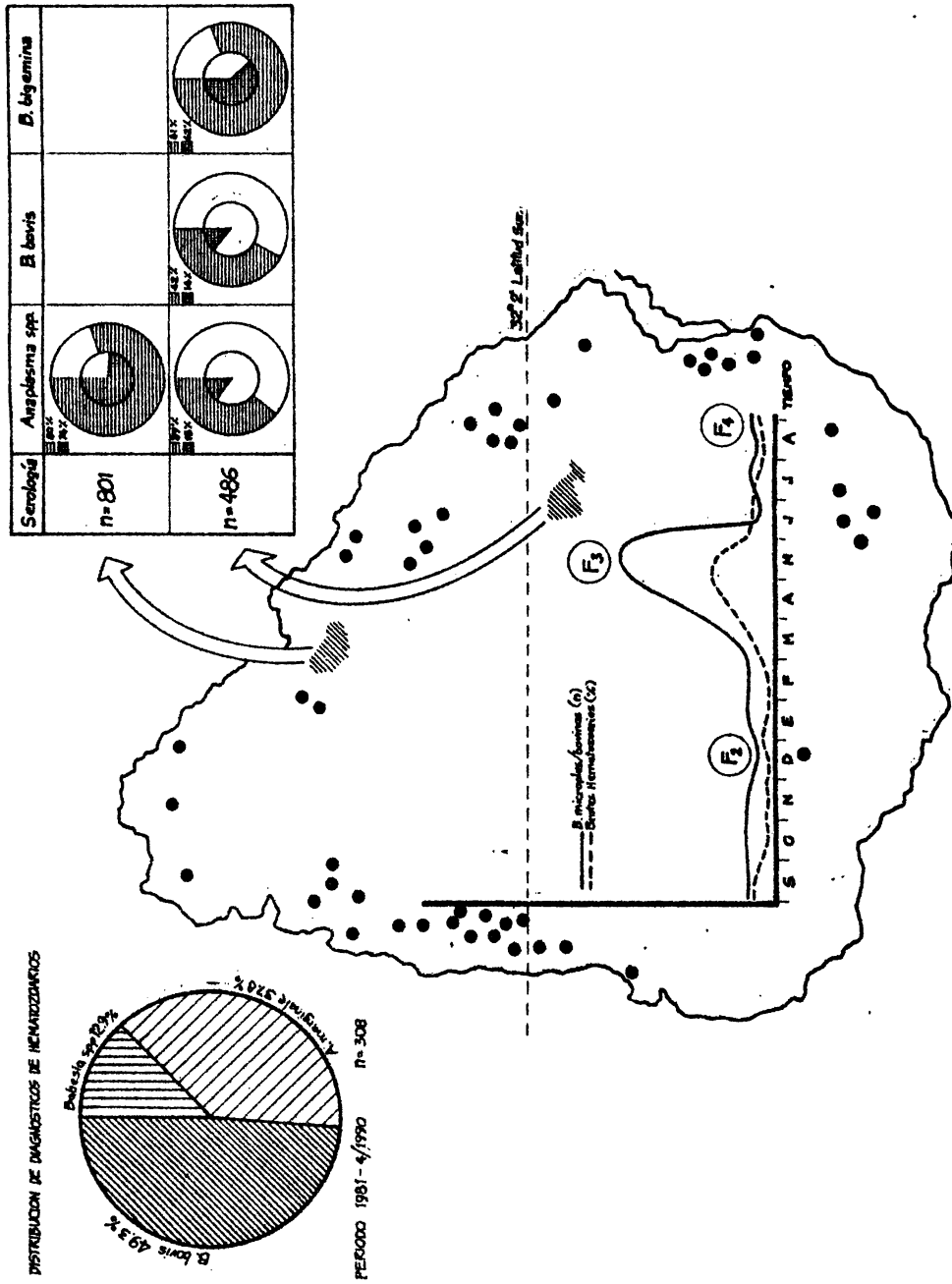
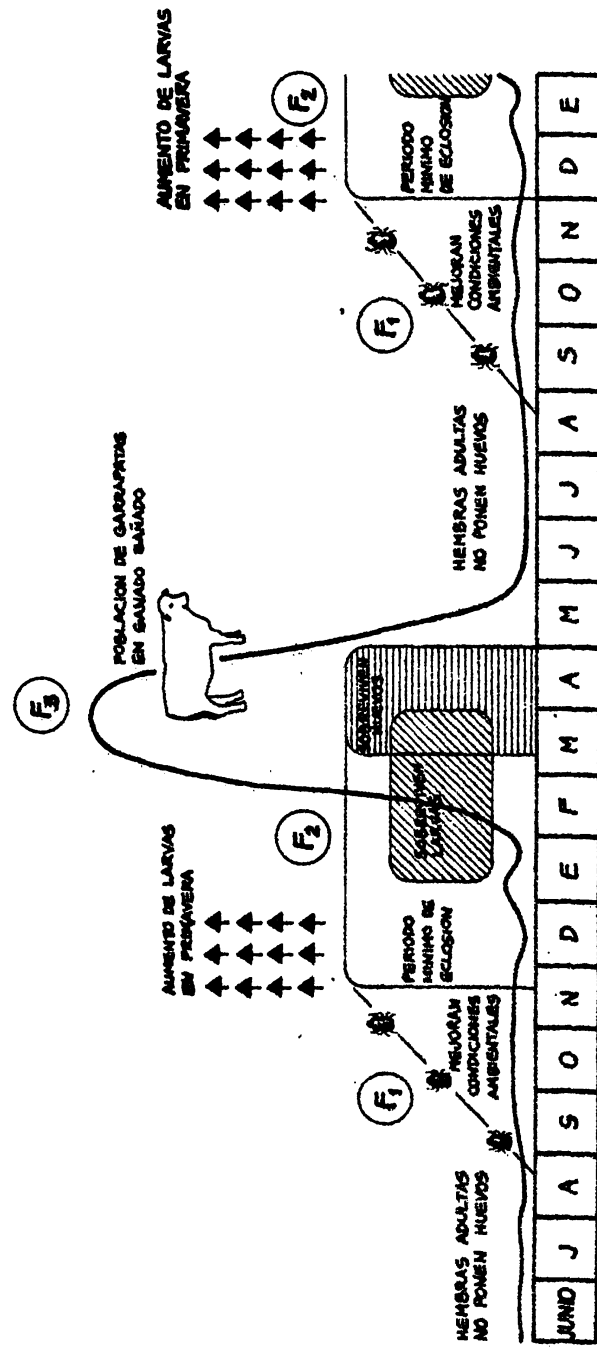


Fig 3 -- DATOS OBTENIDOS EN EL C.I.V.E.T. RELATIVOS A TRISTEZA PARASITARIA BOVINA.

Fig.4 - INCIDENCIA ESTACIONAL DE *Boophilus microplus* EN URUGUAY



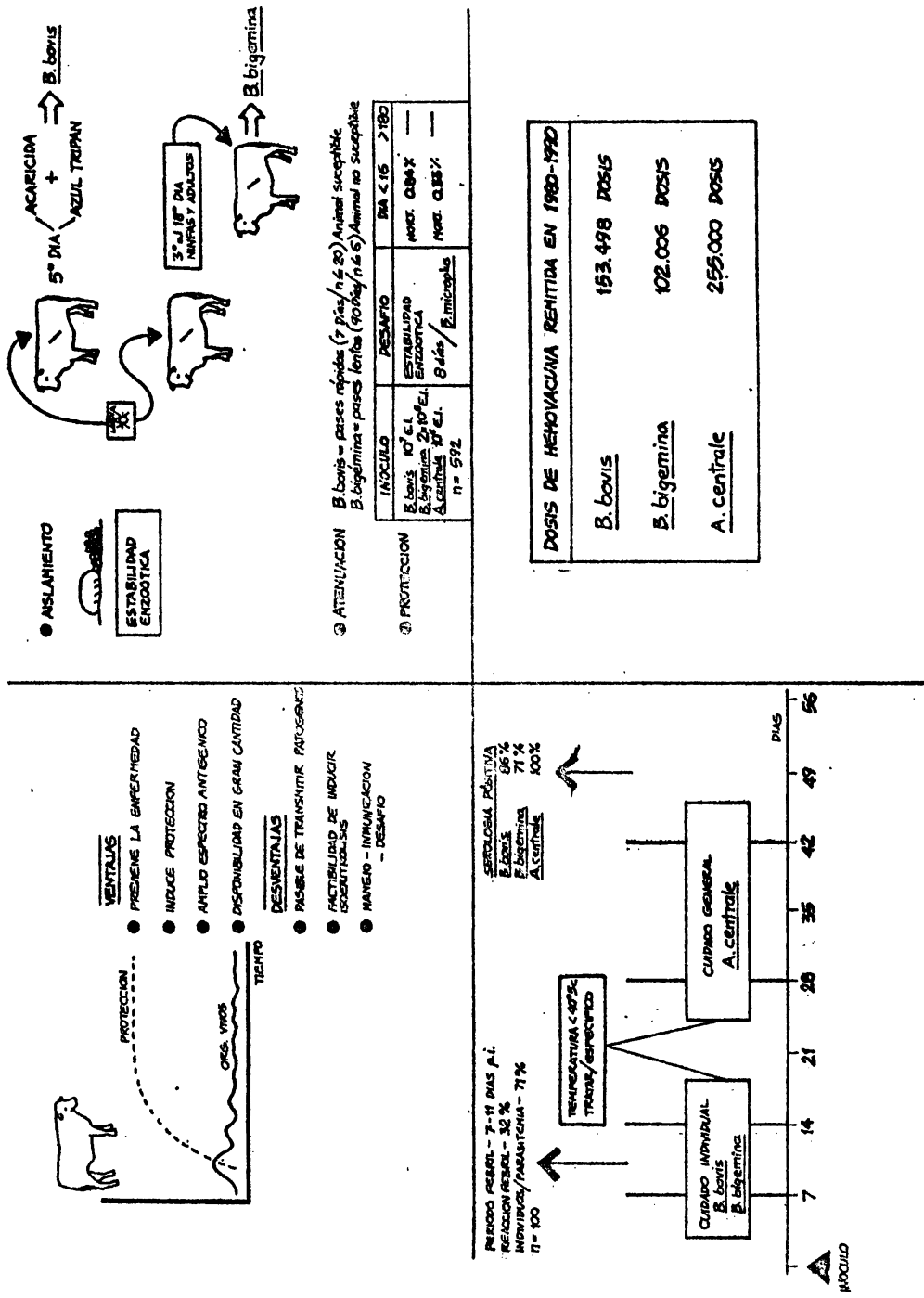


Fig. 5 - CARACTERISTICAS GENERALES DE LA HEMOVACUNA PRODUCIDA POR EL C.I.VET.

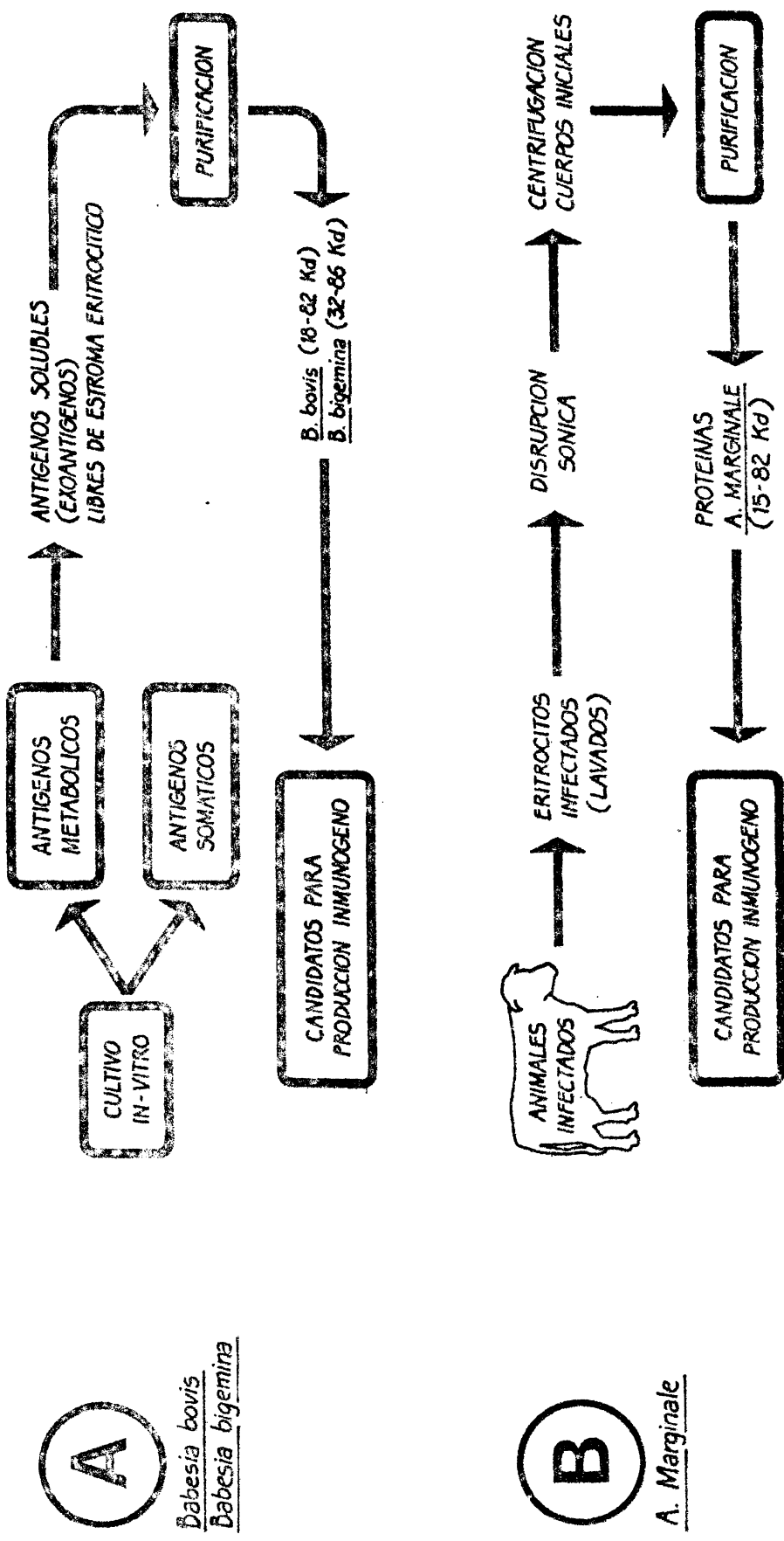


Fig. 6- ANTIGENOS COMPONENTES PARTICULADOS Y/O SOLUBLES DE ERITROCITOS INFECTADOS

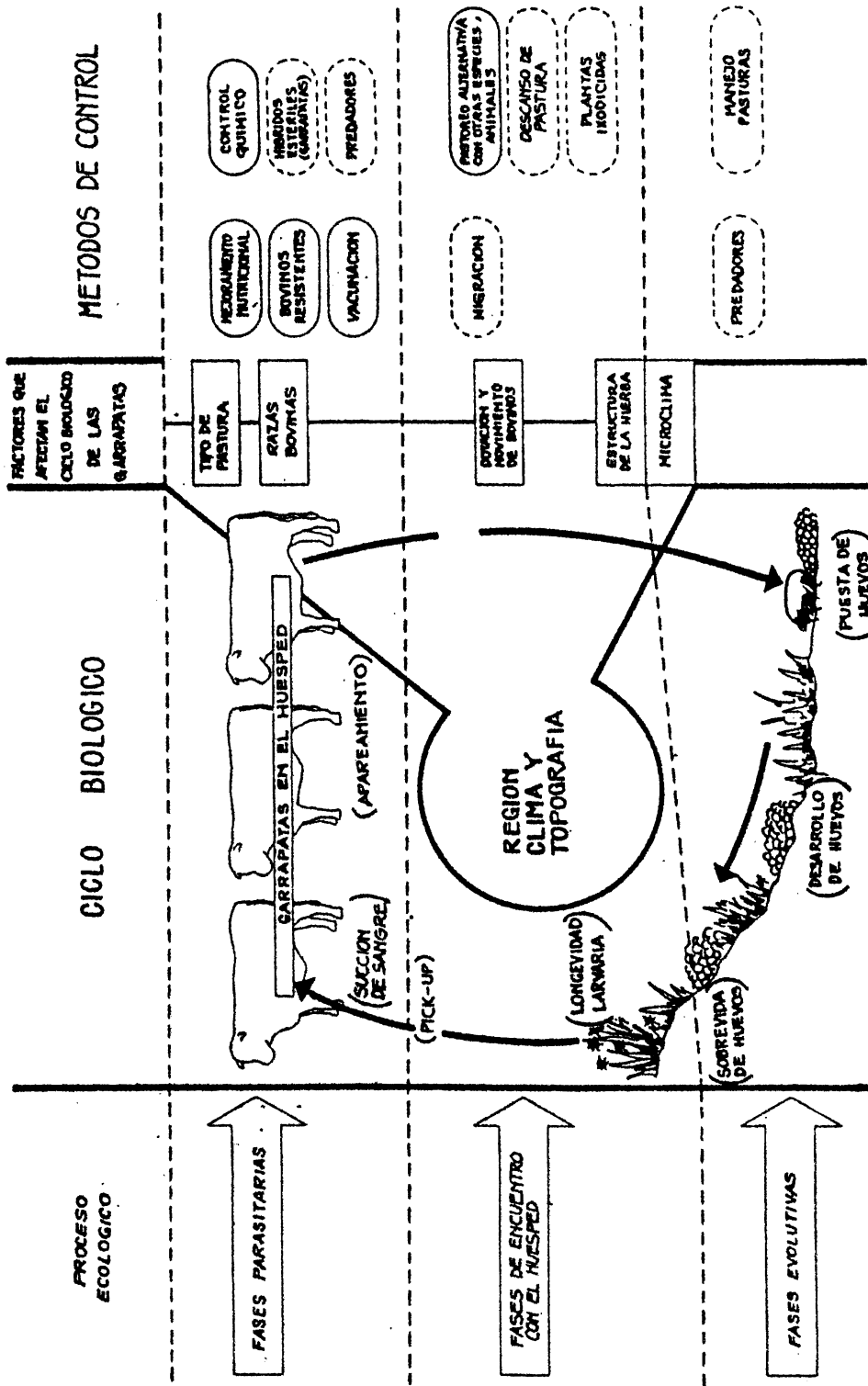


Fig. 7 PRINCIPALES METODOS DE CONTROL DEL *Boophilus microplus* EN RELACION A LAS DISTINTAS FASES DEL PROCESO ECOLOGICO.

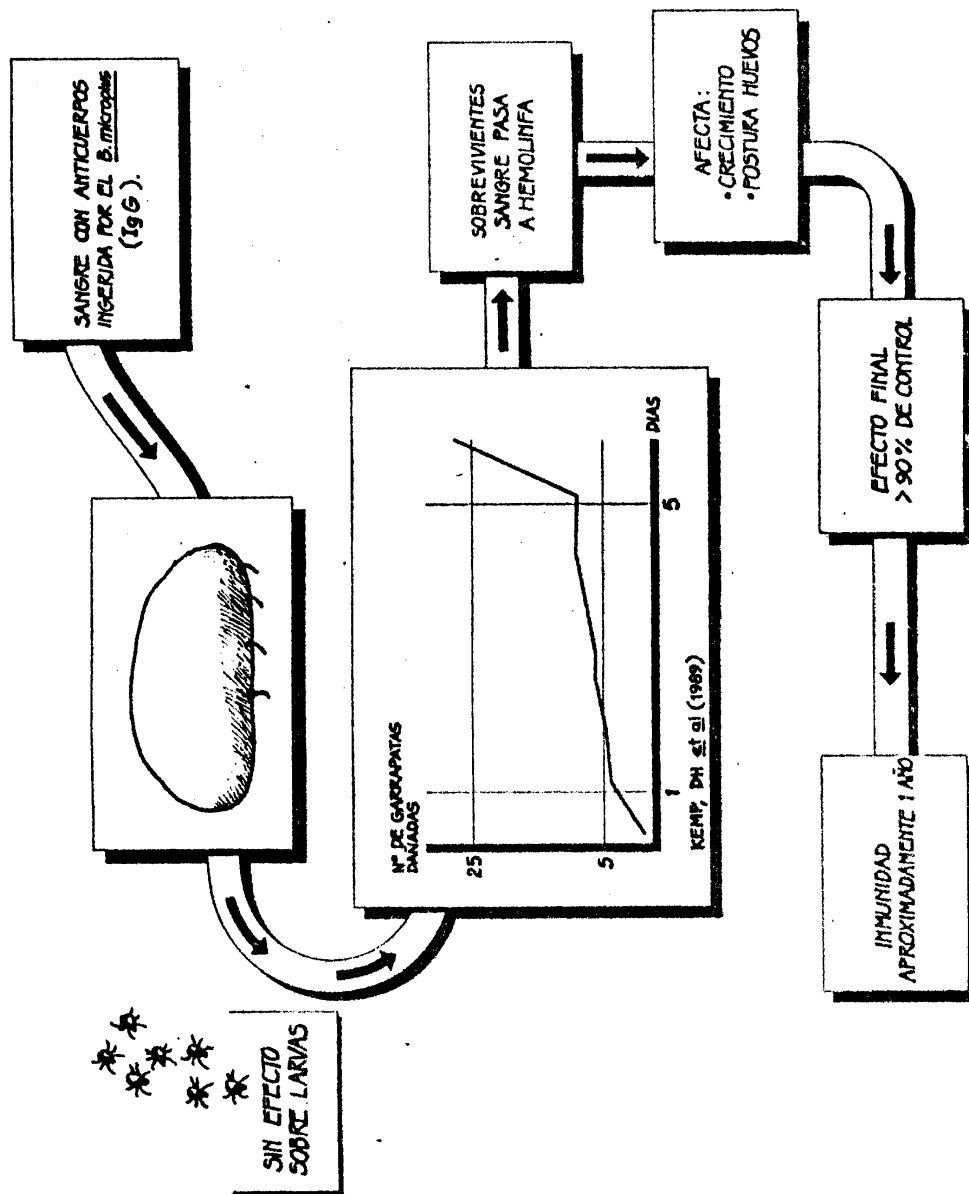


Fig. 8 - EFECTO DE LA VACUNA DE SUBUNIDAD CONTRA EL *Boophilus microplus*

Cuadro 1.

PRINCIPALES VACINAS UTILIZADAS EN LA PREVENCIÓN DE LA BABESIOSIS Y ANAPLASMOSIS

	Babesia spp./Anaplasma spp.
● NO-ATENUADOS.	+
● NO-ATENUADOS CON UTILIZACIÓN DE DOSIS MÍNIMA INFECTANTE.	+
● ATENUADOS POR IRRADIACIÓN.	⊕
● ATENUADOS POR PASAJE EN HUESPEDES ESPECÍFICOS (ESPLENECTOMIZADOS O NO).	-
● ATENUADOS POR PASAJE EN HUESPEDES NO-ESPECÍFICOS.	⊕
● ATENUADOS EN MEDIOS DE CULTIVOS.	+
● NATURALMENTE ATENUADOS.	+
● UTILIZACIÓN DE ORGANISMOS HETERÓLOGOS	-
● ANTÍGENOS SOLUBLES EN EL PLASMA DE BOVINOS ENFERMOS O RECUPERADOS.	+
● ANTÍGENOS SOLUBLES DE CULTIVO CELULAR	-
● ANTÍGENOS CRUDOS (PARTICULADOS + SOLUBLES)	+
● ANTÍGENOS OBTENIDOS POR LA RECOMBINACIÓN DEL ADN.	+
ANTÍGENOS VIABLES	
ANTÍGENOS NO VIABLES	

CUADRO 2

<p>NO ATENUADA</p>	<p>DADORES INTACTOS</p> <p>SANGRE</p> <p>SANGRADO A CIEBAS</p> <p>DOSIS MINIMA</p> <p>CUIDADO A CAMPO O A GALPON</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Riesgo de otros patógenos (+/+) ● Riesgo de no inocular algunos de los agentes. ● Peligro de invertir durante el proceso.
<p>ATENUADA POR IRRADIACION</p>	<p>SEMILLA ATENUADA NITROGENO LIQUIDO</p> <p>DADOR ESPLENECTOMIZADO</p> <p>SANGRADO EN ETAPA AGUA</p> <p>20-50 kRad.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Infraestructura adecuada ● Atenuación errática ● Posibilidad de modificación del comportamiento.
<p>ATENUACION POR PASAJES EN HUESTEDOS ESPECIFICOS</p>	<p>SEMILLA ATENUADA NITROGENO LIQUIDO</p> <p>DADOR ESPLENECTOMIZADO</p> <p>SANGRADO EN ETAPA AGUA</p> <p>Bacterias viables inoculación de 1×10^7 E.I.</p> <p>Bacterias viables inoculación de 2×10^8 E.I.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Riesgo de otros patógenos (+/+) ● Manejo especial del rodeo. ● Isoantigenicidad. ● Puede haber retorno de virulencia.
<p>ORGANISMOS HETEROLOGOS</p>	<p>DADOR ESPLENECTOMIZADO</p> <p>SANGRADO CON PRESENCIA MEDIA EN ETAPA AGUA Y CRONICA</p> <p>Anaplasma certiale inoculación de 1×10^8 E.I.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Riesgo de otros patógenos (+/+) ● Manejo especial del rodeo. ● Isoantigenicidad.
<p>EN MEDIO DE CULTIVO</p>	<p>SEMILLA ATENUADA NITROGENO LIQUIDO</p> <p>DADOR ESPLENECTOMIZADO</p> <p>SANGRADO CON PRESENCIA MEDIA EN ETAPA AGUA Y CRONICA</p> <p>Anaplasma certiale inoculación de 1×10^8 E.I.</p> <p>Eritrocitos infectados sin incubados en medios especiales en una almohadilla con baja tensión de oxígeno</p> <p>Atenuación por cultivo en presencia de suero equino y bovino</p> <p>Angélica spp. y Babesia spp. atenuados</p> <p>Ne atenuados</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Riesgo de otros patógenos (+) ● Métodos operativos. ● Infraestructura adecuada.

CUADRO 3. "PRINCIPALES DIFERENCIAS ENTRE LA INMUNIDAD DESARROLLADA NATURALMENTE EN BOVINOS POR B. MICROPLUS Y LA VACUNACIÓN CON ANTÍGENOS OCULTOS".

	TIPO DE INMUNIDAD	
	RESISTENCIA NATURAL	VACUNACIÓN
ESTADIO AFECTADO	- LARVA	- ADULTO
EFFECTO EN N° DE GARRAPATAS	- MUY VARIABLE	- VARIABLE, CON TENDENCIA A GRAN REDUCCIÓN
EFFECTO EN EL AUMENTO DE PESO DE GARRAPATAS	- PEQUEÑO	- GRANDE
EFFECTO RELATIVO PESO/POSTURA DE HUEVOS	- NULO	- USUALMENTE GRANDE
EXPRESIÓN DE INMUNIDAD	- RECHAZO DE LARVAS CON POCO DAÑO	- IMPORTANTE DAÑO CON MUERTES DE ADULTOS