

## INMUNIZACION CONTRA LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA CON VACUNAS ATENUADAS

Por F. Rejas García

A. Garrido Pertierra\*  
A. Pérez Huertes  
J. L. Argüello Villares

### INTRODUCCION

La vacunación de los terneros de aptitud cárnica contra la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, es habitual en aquellos países en que la enfermedad está difundida, comenzando en estos momentos su empleo en España.

Se han utilizado en la inmunización, vacunas inactivadas, con diversos adyuvantes de inmunidad, sin resultados satisfactorios.

El empleo de vacunas vivas atenuadas es habitual en los países que practican la vacunación.

La atenuación de las cepas, a través de pases por cultivos de células renales bovinas, es total a partir del 40 pase, sin pérdida de capacidad inmunizante<sup>13</sup>.

El título mínimo de la vacuna, para provocar una buena protección no debe ser inferior a  $10^{4.2}$  DICT<sub>50</sub><sup>9,10</sup>.

La duración de la inmunidad es como mínimo de 6 meses, en animales sin anticuerpos en el momento de la vacunación. Los títulos S N, alcanzan un mínimo de 10<sup>2</sup>, pudiendo detectarse durante períodos de hasta 3 años<sup>2,9</sup>.

La inmunidad parenteral en terneros nacidos de madres inmunizadas, es similar a la de las madres, con una duración de 2-4 meses. La inmunidad maternal puede afectar la vacunación con vacunas atenuadas, recomendándose en estos casos la primovacunación a la edad de 4 meses<sup>12,18</sup>.

La vacunación de terneros es totalmente inocua, no excediendo la morbi-

---

\* Departamento Interfacultativo de Bioquímica.

An. Fac. Vet. León, 1979, 25, 63-68.

lidad postvacunal del 1 %, frente a niveles del 5-10 %, en animales no vacunados<sup>2,17</sup>.

Para algunos autores en vacas gestantes puede provocar abortos<sup>4,5,6,8,18</sup>, otros ponen en duda la responsabilidad de la vacuna en estos accidentes postvacunales<sup>3,11</sup>.

La vacunación por vía parenteral provoca exclusivamente anticuerpos circulantes, no estimulando el sistema secretorio externo, y no detectándose por consiguiente IgA a nivel de mucosas<sup>1,14,15,16</sup>.

La vacunación por vía intranasal, estimula los sistemas secretorios interno y externo, así como la producción de interferón.

La producción de interferón comienza seguidamente de la vacunación, detectándose a las 40 horas, alcanzando el máximo a las 96 horas y manteniendo concentraciones estimables a los 8 días<sup>15,16</sup>.

La producción de IgA a nivel de mucosa respiratoria, es rápida, alcanzando fuertes concentraciones a los 14-21 días de la vacunación y persistiendo durante 6-8 semanas. La respuesta del sistema secretorio interno, es similar a la lograda con la vía parenteral<sup>15</sup>.

Los anticuerpos maternales no afectan la implantación de la inmunidad, y los animales vacunados quedan protegidos frente a la enfermedad, por medio del interferón, a partir de 40-72 horas de la vacunación<sup>15,16</sup>.

A causa de la aparición cada vez más frecuente de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el ganado de carne de explotación intensiva, en España, y de la existencia de vacuna elaborada a partir de cepas atenuadas de virus RIB autóctonos, creímos oportuno estudiar la inocuidad, capacidad estimulante del sistema secretorio interno, influencia de la inmunidad maternal, así como de las vías de vacunación, intramuscular e intranasal de la misma.

Con el objeto de poder descartar los animales con agammaglobulinemia, se realizaron conjuntamente sobre los sueros problema estudios electroforéticos y de seroneutralización.

## MATERIAL Y METODOS

Vacuna comercial elaborada, a partir de una cepa de virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB), atenuada a través de 40 pasos por monoestrajos de células renales de ternera, cultivada sobre el mismo tipo de monoestrajo, estabilizada y liofilizada, con un título de  $10^5$  DICT<sub>50</sub> por dosis.

El estudio se realizó sobre terneros de raza rubia gallega, adquiridos a la edad de 10-12 días en Galicia y trasladados a la provincia de Barcelona. Previa investigación electroforética y anticuerpos S N a los 14 días de edad, se prepararon seis lotes de 10 terneros cada uno, de las siguientes características:

Lote 1-I N, libre de anticuerpos maternales. Vacunación intranasal.

Lote 1-I M, libre de anticuerpos maternales. Vacunación intramuscular.

Lote 2-I N, con anticuerpos maternales. Vacunación intranasal.

Lote 2-I M, con anticuerpos maternales. Vacunación intramuscular.

Lote 3, testigos sin anticuerpos maternales.

Lote 4, testigos con anticuerpos maternales.

La vacunación se realizó a los 22 días de edad, realizándose controles electroforéticos y de seroneutralización a las 3 y 6 semanas de la vacunación.

Las titulaciones de virus y seroneutralización se realizaron sobre monoestrajos primarios de células renales de ternera, en tubos.

Se utilizó como medios de cultivo de crecimiento y mantenimiento, Solución de Hanks, con lactoalbúmina, extracto de levadura y Solución de antibióticos (penicilina, dihidroestreptomicina y nistatina), con una concentración de suero de ternera negativo del 10 y 2 % respectivamente.

En la determinación de títulos de seroneutralización se ha empleado el método de virus constante-diluciones de suero, con una concentración vírica de 100 DICT<sub>50</sub> de virus por tubo. Las lecturas para determinar el efecto citopático se realizaron hasta el sexto día de incubación. Los títulos se expresan en unidades neutralizantes, por ml de suero, de 1 DICT<sub>50</sub> de virus.

La determinación de proteínas séricas totales se realizó por refractometría en refractómetro clínico Erma, previamente contrastado por el método Kjeldahl.

En las pruebas electroforéticas se ha seguido la técnica de Neremberg<sup>7</sup>. La cantidad de suero empleada fue de 4  $\mu$ l con aplicador Atom, sobre tiras de cellogel. Se utilizó solución reguladora de Dietilbarbiturato sódico 0,04 M, voltaje de 200 V, tiempos de migración de 75 minutos y una longitud de 6 cm. La tinción de las tiras se realizó con negro amido, y las lecturas una vez transparentadas en un fotodensímetro Atom 420.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La vacuna resultó totalmente inocua, tanto por vía intranasal como por vía intramuscular, no observándose reacción postvacunal alguna.

El resto de los resultados se expresan en la Tabla I. Todos ellos son resultados medios. La variabilidad encontrada en los títulos S N fue escasa, siendo más acusada en las determinaciones de proteínas totales y de gammaglobulinas.

En ningún caso de los estudiados se observó agammaglobulinemia, probablemente debido al factor raza.

La evolución de las concentraciones de proteínas séricas totales y de gammaglobulinas no ha sido influenciada por la vacunación. Las escasas diferencias entre los lotes vacunados y testigos no son significativas.

La respuesta inmunológica del sistema secretorio interno es muy similar entre las vacunaciones por vía nasal o intramuscular, cuando éstas se realizan sobre animales desprovistos de inmunidad maternal, lotes 1-I N y 1-I M. La

TABLA I

Lote		Edad d.	% proteínas séricas	% relativo gammaglobulinas	T.º S N
1-I N	Antes vacunación	14	5,3	10,3	—
	3 semanas D. Vac.	43	5,9	27,1	$10^{4,4}$
	6 semanas D. Vac.	64	5,9	33,5	$10^{4,7}$
1-I M	Antes vacunación	14	5,1	8,1	—
	3 semanas D. Vac.	43	6,0	26,8	$10^{4,5}$
	6 semanas D. Vac.	64	6,3	28,9	$10^{4,6}$
2-I N	Antes vacunación	14	5,2	7,8	$10^{3,4}$
	3 semanas D. Vac.	43	5,8	30,5	$10^{3,7}$
	6 semanas D. Vac.	64	5,9	31,4	$10^{3,8}$
2-I M	Antes vacunación	14	5,2	7,8	$10^{3,4}$
	3 semanas D. Vac.	43	5,8	31,7	$10^{3,4}$
	6 semanas D. Vac.	64	5,8	30,7	$10^{3,1}$
3	Testigos sin anticuerpos maternales	14	5,4	10,2	—
		43	5,8	29,0	—
		64	5,8	30,7	—
4	Testigos con anticuerpos maternales	14	5,4	10,5	$10^{3,5}$
		43	6,0	32,1	$10^{3,1}$
		64	6,2	31,8	$10^{3,1}$

respuesta es alta a las tres semanas de la vacunación, títulos S N  $10^{4,4}$  –  $10^{4,5}$ , aumentando ligeramente a las 6 semanas, títulos S N  $10^{4,7}$  –  $10^{4,6}$ .

La respuesta inmunológica del sistema secretorio interno se ve afectada cuando los animales vacunados poseen inmunidad maternal, lotes 2-I N y 2-I M, observándose una notable diferencia entre los dos métodos de vacunación.

Por vía parenteral, lote 2-I M, la respuesta es prácticamente nula, títulos S N  $10^{3,4}$  –  $10^{3,1}$ , similares a los encontrados antes de la vacunación, títulos S N  $10^{3,4}$ , y con una evolución semejante a la de los animales no vacunados con anticuerpos maternales, lote 4, títulos S N  $10^{3,5}$  –  $10^{3,1}$  –  $10^{3,1}$ .

La respuesta por vía nasal, se ve afectada ligeramente, lote 2-I N, alcanzándose títulos S N de  $10^{3,7}$  –  $10^{3,8}$ , inferiores a los logrados en la vacunación por la misma vía sobre animales desprovistos de inmunidad maternal, lote 1-I N, títulos S N  $10^{4,4}$  –  $10^{4,7}$ .

## RESUMEN

Se ha realizado un estudio para determinar la inocuidad, capacidad estimulante del sistema secretorio interno, influencia de la inmunidad maternal, así como de las vías de vacunación intranasal e intramuscular, de una vacuna contra la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, elaborada a partir de una cepa

autóctona de virus RIB, atenuada a través de 40 pases por células renales de ternera.

El estudio se realizó sobre 6 lotes de 10 terneros, con vacunación por vía intranasal o intramuscular, sobre animales con y sin anticuerpos vacunales, a la edad de 22 días.

Se investigó la concentración de proteínas séricas, gammaglobulinas y anticuerpos neutralizantes antes de la vacunación y a las 3 y 6 semanas de la misma.

De los resultados encontrados se deduce que:

- 1) La vacuna es totalmente inocua por cualquiera de las vías de administración ensayadas.
- 2) La evolución de las concentraciones de proteínas séricas totales y de gammaglobulinas no ha sido influenciada por la vacunación.
- 3) No se han observado estados de agammaglobulinemia.
- 4) La respuesta inmunológica del sistema secretorio interno es alta y muy similar entre ambos sistemas de vacunación, cuando ésta se realiza sobre animales desprovistos de anticuerpos.
- 5) Este tipo de respuesta inmunológica se ve afectada en los animales con inmunidad maternal, de una forma total en los animales vacunados por vía intramuscular y parcialmente en los vacunados por vía intranasal.

## INMUNIZATION AGAINST INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS WITH ATTENUATED VACCINES

### SUMMARY

A study has been carried out to determine the innocuity, the stimulating capacity of the internal secretory system and the influence of maternal immunity, as well as that of intranasal and intramuscular routes of vaccination of a vaccine against Infectious Bovine Rhinotracheitis, elaborated from a RIB (IBR) virus autoctone strain, attenuated through 40 passages into calf renal cells.

This study has been performed on 6 lots of 10 calves each, with a vaccination by intranasal or intramuscular route on 22-day old animals with and without vaccinal antibodies.

The serum proteins concentration, the gammaglobulins and the neutralizing antibodies were investigated prior to vaccination, and at 3 and 6 weeks following same.

From the results obtained we can deduce that:

- 1) The vaccine is quite innocuous by any of the routes of administration tried or used.
- 2) The evolution of the total concentrations of serum proteins and that of gammaglobulins have not been influenced by the vaccination.

3) No state of agammaglobulinemia has been observed.

4) The immunological response of the internal secretory system is high and very similar with either of both systems of vaccination when vaccinating animals deprived of antibodies.

5) This type of immunological response is completely affected in animals with maternal immunity, vaccinated by intramuscular route, and partially affected in those vaccinated by intranasal route.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) BELLANTI, J. A. (1972).-«*Inmunología*». Editorial Interamericana. México.
- 2) BROWN, W. N., CHOW, T. L. (1959).-Field trials of Infectious Bovine Rhinotracheitis Vaccine. *J. Ame. Vet. med. Ass.*, **134**: 29-31.
- 3) KAHERS, R. F., HILLMAN, R. B., TODD, J. D. (1973).-Observations on the Intranasal Vaccination of Pregnant cattle against Infectious Bovine Rhinotracheitis and Parainfluenza-3 virus infection. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **163**: 437-441.
- 4) LUKAS, G. N., WEIDENBACK, S. J., PALMER, K., DICKIE, C. W., DUNCAN, R. F., BARRERA, J. (1964).-A bovine fetal viral isolate neutralized by IBR immune serum as a cause of abortion in cattle. *Proc. 67th. Ann. Meet. U.S. Livestock Sanit. Ass.* New México, 108-128.
- 5) McFEELY, R. A., MERRIT, A. M., STEARLY, E. L. (1968).-Abortion in a dairy herd vaccinated for infectious bovine rhinotracheitis. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **153**: 657-661.
- 6) MCKERCHER, D. G., WADA, E. M. (1964).-The virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis as a cause of abortion in cattle. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **144**: 136-142.
- 7) NERENBERG, S. T. (1968).-«*Electroforesis, Manual práctico de Laboratorio*». Editorial Jims. Barcelona.
- 8) OWEN, N. V., CHOW, T. L., MOLELLO, J. A. (1964).-Bovine Fetal lesions experimentaly produced by Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. *Ame. J. vet. Res.*, **25**: 1.617-1.626.
- 9) PEACOCK, G. V. (1968).-Test Requirements for Biologics Used against Bovine Respiratory Diseases. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **152**: 833-837.
- 10) PHILLIPS, C. E. (1968).-Potency evaluation of Vaccines used against Bovine Respiratory Diseases. *J. Ame. vet. med.*, **152**: 842-845.
- 11) ROBINSON, V. B., NEWBERNE, J. W., MITCHELL, F. E. (1961).-Vaccination of pregnant cattle with Infectious Bovine Rhinotracheitis vaccine. *Vet. Med.*, **56**: 437-440.
- 12) ROSNER, S. F. (1968).-Infectious Bovine Rhinotracheitis: Clinical Review. Immunity and Control. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **153**: 1.631-1.638.
- 13) SCHWARZ, A. J. F., YORK, C. J., ZIRBEL, L. W., ESTELA, L. A. (1957).-Modifications of Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) virus in tissue culture and development of a vaccine. *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.*, **96**: 453-458.
- 14) TOMASI, T. B., BIENENSTOCK, J. (1968).-Secretory Immunoglobulins, en *Advances Immunology*, **9**: 1-96. Academic Press. N. Y.
- 15) TODD, J. D., VOLENEC, F. J., PATON, I. M. (1971).-Intranasal vaccination against Infectious Bovine Rhinotracheitis: Studies on early onset of protection and use of the vaccine in pregnant cows. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **159**: 1.370-1.374.
- 16) TODD, J. D., VOLENEC, F. J., PATON, I. M. (1972).-Interferon in nasal secretions and sera of calves after intranasal administration of avirulent Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus: Association of interferon in nasal secretions with early resistance to challenge with virulent virus. *Infect. Immun.*, **5**: 699-706.
- 17) WOERNLE, H., BRUNNER, A., KUSSMAUL, K. F. (1973).-Serologisghe diagnose von Parainfluenza-2, Parainfluenza-3, Mucosal disease, Adeno-Virus und Chlamydien Infektionen sowie der infektiosen Rhinotracheitis des Rindes. *Tierärztl. Umsch.*, **28**: 319-326.
- 18) YORK, Ch. J. (1968).-Infectious Bovine Rhinotracheitis. *J. Ame. vet. med. Ass.*, **152**: 758-760.