

Evaluación de la vacunación con las proteínas recombinantes Bm86 y subolesin para el control de las infestaciones por *Rhipicephalus microplus* en el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*)

Evaluation of vaccination with recombinant proteins Bm86 and subolesin for the control of infestations by *Rhipicephalus microplus* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)

Diana P. Carreón-Camacho ^a

Abstract:

The white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) is the host of different species of ticks and these play a very important role in the transmission of pathogens and the dispersal of ticks and their maintenance in some regions. Vaccines are an effective alternative for tick control; that in cattle there has been a reduction in tick infestation and the prevalence of tick-borne pathogens, and a reduction in the use of acaricides. Here, two experiments were carried out to characterize the antibody response and control of tick infestation of cattle in white-tailed deer immunized with the recombinant protein Bm86 and subolesin (SUB) from ticks and were experimentally infested with *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The results showed the efficacy of the vaccine in general was similar between Bm86 (E = 76%) and SUB (E = 83%) for the control of *R. microplus* infestations in white-tailed deer.

Keywords:

White-tailed deer, ticks, protective antigens.

Resumen:

El venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) es hospedador de diferentes especies de garrapatas y estas juegan un papel muy importante en la transmisión de patógenos y dispersión de garrapatas y su mantenimiento en algunas regiones. Las vacunas son una alternativa efectiva para el control de garrapatas; que en el ganado bovino a producido la reducción de la infestación por garrapatas y la prevalencia de patógenos transmitidos por garrapatas, y la reducción del uso de acaricidas. Aquí, se llevaron a cabo dos experimentos para caracterizar la respuesta de anticuerpos y el control de la infestación por garrapatas del ganado vacuno en el venado cola blanca inmunizados con la proteína recombinante Bm86 y subolesin (SUB) de las garrapatas y experimentalmente fueron infestados con *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Los resultados mostraron la eficacia de la vacuna en general fue similar entre Bm86 (E = 76%) y SUB (E = 83%) para el control de las infestaciones de *R. microplus* en el venado cola blanca.

Palabras Clave:

Venado cola blanca, garrapatas, antígenos protectores.

Introducción

Las poblaciones del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) están creciendo rápidamente en el continente americano (Pound J.M. et al., 2010). Esta especie de venados es huésped de diferentes especies de garrapatas y patógenos transmitidos por garrapatas, tales como *Anaplasma* y *Babesia* spp. Por otra parte, el venado cola blanca es capaz de sostener *Rhipicephalus (Boophilus)*

spp (Holman et al., 2011). Sin embargo, las vacunas contra las garrapatas no se han probado previamente en los venados. Nuestra hipótesis es que la vacunación con antígenos protectores puede ser utilizados para el control de infestaciones por garrapatas en el venado cola blanca.

Materiales y métodos. Los venados fueron inmunizados con cada uno 3 dosis de 100ul de la proteína recombinante. Los controles negativos fueron inyectados con el adyuvante /solución salina sola. Los venados

^a Autor de Correspondencia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, <https://orcid.org/0000-0001-9259-9943>, Email: diana_carreon@uaeh.edu.mx

fueron inyectados por vía intramuscular en la extremidad posterior con 2 ml / dosis utilizando una jeringa de 5 ml y una aguja 16G. La infestación experimental de la garrapata del ganado se llevo a cabo en diez venados de entre 4-5-meses de edad, el venado cola blanca (*O. virginianus*) (7 hembras y 3 machos) fueron adquiridos de Miguel Alemán, Tamaulipas, México, libres de garrapatas y asignados al azar a los grupos experimentales (n = 3 para los grupos vacunados y N = 4 para los controles; un macho en cada grupo). Los venados fueron cada uno inmunizados en las semanas 1, 4 y 9 con la proteína recombinante Bm86, SUB o adyuvante / solución salina sola. Dos semanas después de la última inmunización, los venados fueron infestados con 10.000 garrapatas *R. microplus* (Cepa La Joya) larvas se colocaron individualmente en la parte trasera de cada animal. La eficacia de las formulaciones de la vacuna fue evaluada empleando un t-student (P=0,05) para comparar los resultados de peso de la garrapata adulta, la oviposición y la fertilidad de los huevos entre animales vacunados y los grupos de control. El número de garrapatas se comparó entre los vacunados y los venados del grupo control por parte de la prueba Chi2 (P = 0,05). Para la caracterización de la respuesta inmunitaria a la vacunación de los venados, la sangre de las muestras fueron recolectadas antes de cada inmunización y la infestación por garrapatas (Semanas 1, 4, 9 y 11) y al final del experimento (semana15) en tubos estériles y se mantuvo a 4 ° C hasta su llegada al laboratorio.

La respuesta de anticuerpos a la vacunación con Bm86 tuvo un pico a las 2-4 semanas después del último disparo (fig. 1A y B). La vacuna Bm86 induce una respuesta de anticuerpos significativamente mayor cuando se compara con los controles y el segundo un disparo en el venado cola blanca (Fig. 1B), pero se requiere la vacuna contra SUB, con tres aplicaciones para inducir una respuesta de anticuerpos significativa.

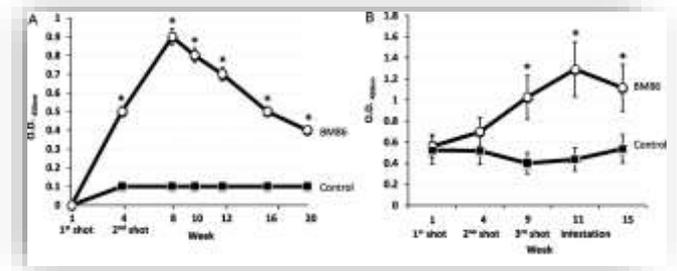


Fig. 1. Respuesta de anticuerpos en los venados vacunados. Los títulos de anticuerpos séricos frente a los antígenos recombinantes de garrapatas se determinaron por ELISA. Los títulos de anticuerpos en los venados inmunizados se expresaron como el valor de DO450 nm y se compararon entre la vacuna y el control de los animales, utilizando una prueba de ANOVA (A-C) o la de un t de Student (D) (* p <0,05).

Conclusiones. En general, estos experimentos permitieron la primera caracterización de la respuesta de anticuerpos y el efecto sobre infestaciones de garrapatas en los venados vacunados dio respuesta a nuestra hipótesis correcta. La vacunación redujo el número de garrapatas que se alimentan en venados y de su comportamiento reproductivo. Por otro lado, la vacunación con antígenos protectores podría ser utilizado para el control de garrapatas en venados y así reducir las poblaciones de garrapatas y la dispersión en las regiones donde los venados son huéspedes importantes para estos ectoparásitos.



Resultados y discusión. Caracterización de la respuesta de anticuerpos en los venados fueron de tres dosis de vacunación dando como resultado ser suficientes dosis de aplicación para inducir la respuesta protectora de antígenos, proporcionando una inmunización más barata y un esquema más sencillo de vacunación en el venado cola blanca contra la garrapata (Fig. 1A-B).

Referencias

1. Cantu A, Ortega-S JA, Garcia-Vazquez Z, Mosqueda J, Henke SE, George JE. Epizootiology of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free-ranging white-tailed deer in northeastern Mexico. *J Parasitol* 2009;95:536–42.
2. Cantu A, Ortega-S JA, Mosqueda J, Garcia-Vazquez Z, Henke SE, George JE. Immunologic and molecular identification of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free-ranging white-tailed deer in northern Mexico. *J Wildl Dis* 2007;43:504–7.
3. de la Fuente J, Almazan C, Blouin EF, Naranjo V, Kocan KM. Reduction of tick infections with *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* by targeting the tick protective antigen subolesin. *Parasitol Res* 2006;100:85–91.
4. de la Fuente J, Almazan C, Canales M, Perez de la Lastra JM, Kocan KM, Willadsen P. A ten-year review of commercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. *Anim Health Res Rev* 2007;8:23–8.
5. de la Fuente J, Estrada-Peña A, Venzal JM, Kocan KM, Sonenshine DE. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci* 2008;13:6938–46.
6. de la Fuente J, Kocan KM. Advances in the identification and characterization of protective antigens for development of recombinant vaccines against tick infestations. *Expert Rev Vaccines* 2003;2:583–93.
7. Holman PJ, Carroll JE, Pugh R, Davis DS. Molecular detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Tom Green County in central Texas. *Vet Parasitol* 2011;177:298–304.
8. Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol* 2010;167:95–107.
9. Mangold AJ, Galindo RC, de la Fuente J. Response to the commentary of D. Macqueen on: Galindo RC, Doncel-Perez E, Zivkovic Z, Naranjo V, Gortazar C, Mangold AJ, et al. Tick subolesin is an ortholog of the akirins described in insects and vertebrates [*Dev. Comp. Immunol.* 33 (2009) 612–617]. *Dev Comp*
10. Martinez A, Salinas A, Martinez F, Cantu A, Miller DK. Serosurvey for selected disease agents in white-tailed deer from Mexico. *J Wildl Dis* 1999;35:799–803.
11. Merino O, Almazan C, Canales M, Villar M, Moreno-Cid JA, Galindo RC, et al. Targeting the tick protective antigen subolesin reduces vector infestations and pathogen infection by *Anaplasma marginale* and *Babesia bigemina*. *Vaccine* 2011;29:8575–9.