

Evaluación de la respuesta serológica contra IBR a partir de la utilización de vacunas polivalentes disponibles en el mercado.

Lux, J.¹; Gimenez, H.²; Torrado, J.¹; Echeveste, O. (†)³ y Fort, M.²

¹INTA, AER Victorica, calle 11 Nº 726, Victorica, La Pampa. lux.juan@inta.gob.ar

²INTA, EEA Anguil, Grupo de Producción, mejoramiento y Sanidad Animal, Nutrición y Calidad de Productos, ruta nacional Nº 5, Km. 580, Anguil, La Pampa.

³(†) Fallecido. Sector de Ganadería, Escuela Provincial Agrotécnica "Florencio Peirone", ruta provincial 105 Km 8, Victorica, La Pampa.

RESUMEN

La Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad de distribución mundial que provoca grandes pérdidas económicas en nuestro país y el mundo. En la provincia de La Pampa se ha reportado su presencia y amplia distribución territorial. En general la prevención de IBR ha estado centrada en la utilización de vacunas polivalentes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta serológica a través de los niveles de anticuerpos presentes. Para ello se utilizaron 3 vacunas comerciales polivalentes que contenían en su formulación Herpesvirus bovino tipo 1 (BVH1) inactivado. Se utilizaron 4 grupos de terneros. G1 estuvo integrado por 14 animales, G2 y G3 por 13 animales y G4 o control (-) por 9 animales. Los animales fueron vacunados en dos oportunidades con un intervalo de 21 días. Para la detección de anticuerpos se utilizó un kit de ELISA. Al finalizar el ensayo al día 42 el porcentaje de animales que presentaron anticuerpos vacunales contra IBR fue del 42,8%, 61,5% y 38,4% para los grupos G1, G2 y G3 respectivamente y de 0% para los animales de G4 o grupo control (-). Las medias geométricas del IRPC (Índice Relativo x 100) en la misma fecha fueron de 16,31; 27,7 y 15,12 para los grupos G1, G2 y G3 respectivamente. Las vacunas utilizadas desarrollaron anticuerpos contra IBR en todos los grupos inoculados existiendo diferencias en el porcentaje de animales positivos de cada grupo. Los niveles de anticuerpos generados por las diferentes vacunas no presentaron diferencias significativas entre sí. Por último, se encontraron diferencias significativas entre el nivel de anticuerpos generado por las vacunas y los niveles obtenidos por pasaje viral.

Palabras clave: Herpesvirus bovino, bovinos, vacunas, anticuerpos.

Evaluation of the serological response against Infectious Bovine Rhinotracheitis by the use of polyvalent inactivated virus vaccines available on the market.

ABSTRACT

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) is a worldwide disease which causes great economic losses in Argentina and around the world. Its presence and high prevalence



have been reported in the province of La Pampa. IBR prevention strategy has mostly been focused on the use of polyvalent vaccines. The objective of our research was to evaluate the serological response, assessing antibodies levels applying three polyvalent commercial vaccines containing inactivated bovine herpesvirus type 1 (BVH1). To that aim, four groups of calves were used: G1 consisted of 14 animals, G2 and G3 of 13 animals, and negative control consisted of 9 animals. The animals were vaccinated twice with an interval of 21 days. Antibodies levels were measured by means of ELISA. At the end of the trial, the percentage of animals in each group that showed vaccinal antibodies against IBR were: 42.8%, 61.5% and 38.4% for G1, G2 and G3 respectively, and 0% for G4 or negative control group. The geometric means of the IRPC (Relative Index x 100) on the same date were 16.31; 27.7 and 15.12 for groups G1, G2 and G3 respectively. The vaccines used, developed antibodies in all the inoculated groups, with differences in the percentage of positive animals in each group. The levels of antibodies generated by the different vaccines did not present significant differences between them. Finally, significant differences were found between the levels of antibodies generated by the vaccines and the levels obtained by viral passage.

Keywords: Bovine herpesvirus, cattle, vaccines, antibodies.

INTRODUCCIÓN

La Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) es una enfermedad causada por el Herpesvirus Bovino Tipo 1 (HVB-1). El mismo pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alphavirinae*, género *Varicellovirus*. La misma aparece descrita en la bibliografía como una enfermedad infectocontagiosa aguda y febril.

Junto con otros virus, bacterias y en algunas ocasiones parásitos, forma parte del denominado Complejo Respiratorio Bovino (CRB) o Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) (Odeón 2015).

La IBR en general presenta una baja mortalidad y una elevada morbilidad. Se estima una seroprevalencia de entre el 20 y el 70% y ha sido diagnosticada en el 9% de los abortos (Barboni et al. 2009).

En la provincia de La Pampa, según estudios realizados en la década del 90 la prevalencia en animales adultos para IBR oscilaba entre el 68% y el 75% para dos departamentos con explotaciones agropecuarias mayormente de cría extensiva (Fort et al. 1996).

Según un trabajo realizado en 10 establecimientos del departamento Loventue dedicados a la cría bovina se detectó la presencia de animales con anticuerpos para la IBR en el 100% de estos. La seroprevalencia en la categoría terneros fue del 5%, y del 8% y 58% para las categorías vaquillonas y vacas respectivamente (Fort et al. 2012).

En general la vacunación forma parte de las estrategias para prevenir esta enfermedad. Para House (1980) y Odeón (2015) el uso de las mismas en la prevención del ERB no debería sobre dimensionarse por la limitada inmunidad que brindan.

Es importante señalar que en nuestro país solo se permite el uso de las vacunas inactivadas, las cuales tienen una serie de limitaciones, entre las que se encuentra la baja inmunogenicidad (Romera 2001, Valera 2002).

Dentro de los factores que afectan la eficacia de las vacunas inactivadas contra BVH-1 deben incluirse el tipo de adyuvante utilizado en su formulación y la concentración antigénica del virus (Kamaraj et al. 2009).

Algunos autores al evaluar la inmunogenicidad de diferentes lotes de vacunas encontraron una asociación entre el nivel de anticuerpos generados y la cantidad de virus utilizado (previos a la inactivación), considerando que antígenos que contienen títulos virales por encima de 10^8 TCID₅₀/dosis pueden inducir una mejor respuesta de anticuerpos (Kamaraj et al. 2009).

En la República Argentina, la respuesta generada por las vacunas comerciales es motivo de discusión permanente. Al respecto otros autores evaluaron la respuesta inmune generada por dos vacunas convencionales bivalentes contra IBR y DVB, utilizando dos esquemas de vacunación diferentes, sin encontrar respuesta contra BVH-1 en ninguno de los lotes vacunados (Valera et al. 2009).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta serológica contra IBR a partir del uso de vacunas polivalentes disponibles en el mercado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó durante los meses de mayo y junio en el campo de la Escuela Provincial Agrotécnica "Florencio Peirone" de Victorica, La Pampa.

Los procedimientos utilizados con los animales siguieron las pautas establecidas en la Guía para el cuidado y uso de Animales Agrícolas en la Investigación y Enseñanza Agrícola.

Se utilizó un lote de 49 terneros de 6 meses de edad. Los mismos llevaban 21 días de destetados, presentaban un buen estado general, tamaño corporal parejo y no habían sido vacunados contra BVH-1.

Se trabajó con vacunas polivalentes de 3 marcas comerciales diferentes que incluían en su formulación BHV-1 inactivado e hidróxido de aluminio como adyuvante.

Los animales se agruparon en 4 grupos (G) de 15 animales. Al finalizar el ensayo los grupos quedaron compuestos de la siguiente manera: (G1) 14 animales, (G2) 13 animales, (G3) 13 animales y (G4) o control negativo 9 animales. A los grupos (G1, G2 y G3) se les aplicaron dos dosis de vacuna con intervalos de 21 días. Al grupo número 4 por ser el testigo se le aplicó solución fisiológica como placebo también con un intervalo de 21 días*.

Para tener una referencia del nivel de anticuerpos que se generaron se utilizó como control (+) un grupo de 10 animales que estuvieron en contacto con BHV-1 y que fueron detectados en un trabajo realizado el año anterior.

A los animales de G1, G2, G3 y G4 se les extrajo sangre en cuatro oportunidades diferentes. La primera extracción fue 21 días previos al inicio del ensayo, la segunda extracción coincidió con la aplicación de la primera dosis vacuna, ambas extracciones se realizaron para descartar que hubiese animales con presencia de anticuerpos contra el BHV-1. La tercera extracción coincidió con la aplicación de la segunda dosis de vacuna, 21 días después de la primera aplicación. La cuarta extracción se realizó a los 21 días de aplicada la segunda dosis de vacuna.

***Aclaración:** la disparidad en el número de animales por grupo que finalizaron el ensayo se debe a que solo se contabilizaron los animales que completaron todas las inoculaciones y extracciones. El ensayo se llevó adelante en un sistema real de producción correspondiente al área denominada "el Cadenal" donde predominan árboles y arbustos por lo que algunos animales perdieron las caravanas o no pudieron ser encerrados para realizar la totalidad de las prácticas previstas.

A las muestras de sangre se les extrajo el suero y fueron congeladas hasta su procesamiento. Para la detección de anticuerpos contra el virus de la IBR se utilizó un kit de ELISA indirecto del Laboratorio HIPRA (CIVTEST Bovis IBR) de acuerdo a la metodología descrita por el fabricante. Para la interpretación de los resultados se utilizó el índice relativo x 100 (IRPC) que sale de la siguiente fórmula:

$$\left(\frac{\text{DO. Muestra} - \text{DO control negativo}}{\text{DO control positivo} - \text{DO control negativo}} \right) \times 100.$$

Los resultados de IRPC menores a 25 fueron considerados negativos, y resultados con un IRPC igual o mayor a 25 positivos.

Para evaluar el nivel de anticuerpos generado por cada vacuna se tomaron las medias geométricas de las densidades ópticas obtenidas de los sueros correspondientes a cada grupo en los distintos muestreos realizados. Las medias geométricas fueron comparadas entre sí y con el control (+). Posteriormente, se utilizó el test de análisis de varianza ANOVA para analizar la respuesta de cada vacuna, y comparar la respuesta entre vacunas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla N° 1, el porcentaje de animales vacunados que presentó anticuerpos contra IBR 21 días posteriores a la primera aplicación de la vacuna fue del 28,6%, 46% y 38,4% para los grupos G1, G2 y G3 respectivamente. El grupo G4 o Control (-) tuvo el 0% de animales con anticuerpos para IBR.

El porcentaje de animales revacunados que presentó anticuerpos contra IBR 21 días posteriores a la aplicación de la segunda dosis de vacuna fue del 42,8%, 61,5% y 38,4%, para G1, G2 y G3 respectivamente y 0% para G4 o Control (-).

Tabla 1. Presencia de anticuerpos contra IBR post vacunación.

	G 1	G 2	G 3	G 4
Nº de animales con anticuerpos a los 21 días de recibir la primera dosis de vacuna/Total de animales vacunados	4/14	6/13	5/13	0/9
% de animales con anticuerpos a los 21 días de recibir la primera dosis de vacuna	28,6	46	38,4	0
Intervalo de confianza (IC)	9,8-55,5	21,3-72,6	15,7-65,9	-
Cantidad de animales con anticuerpos luego de la 2ª dosis/Total de animales vacunados	6/14	8/13	5/13	0/9
% de animales con anticuerpos a los 21 días de recibir la segunda dosis de vacuna	42,8	61,5	38,4	0
Intervalo de confianza (IC)	14,6-68,8	34,1-84,3	15,7-65,9	-

En la tabla 2 se puede observar la evolución de la media geométrica del IRPC según el grupo de animales a los días -21, 0, 21 y 42 del ensayo.

Tabla 2. Evolución de la media geométrica del IRPC según el grupo de animales.

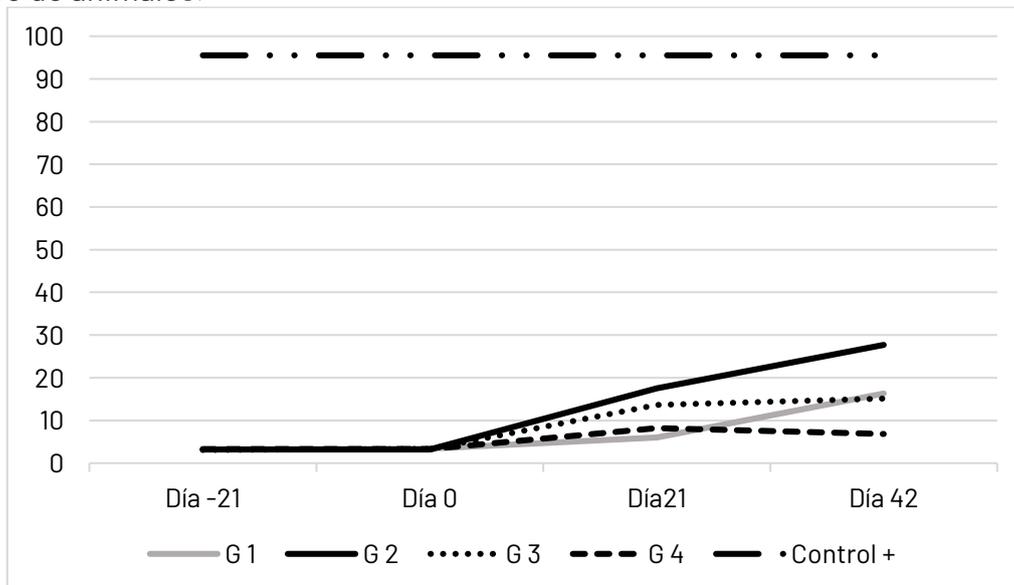
Media geométrica del IRPC				
	Día -21	Día 0	Día 21	Día 42
G 1	3,2	3,4	6	16,31
G 2	3,2	3,2	17,5	27,7
G 3	3,1	3,32	13,6	15,12
G 4 o Control (-)	3,3	3,3	8,2	6,8
Control (+)			95,53	

En la figura 1 puede visualizarse que la media geométrica del IRPC de G1 aumenta luego de la segunda dosis. Para G2 la misma aumenta de manera constante luego de la primera y segunda aplicación hasta alcanzar el valor máximo el día 42. La media geométrica de G2 para los días 21 y 42 se presenta como la más elevada.

Por otro lado, la media geométrica G3 presenta un aumento luego de la primera aplicación, para mantenerse prácticamente constante después de la segunda vacunación.

Por último, en G4 o Control (-) no hubo variaciones fuera de las esperadas para animales no vacunados, indicando que no hubo actividad viral durante el tiempo que duro la prueba.

Figura 1. Representación gráfica de la evolución de la media geométrica del IRPC según el grupo de animales.



Siguiendo con la interpretación de la figura 1 se pueden contrastar las medias geométricas de los IRPC de los diferentes grupos vacunados y del control (+) correspondiente al grupo de animales en el que hubo pasaje viral.

Al aplicar el test de análisis de varianza ANOVA a las medias geométricas del IRPC obtenido los días 0, 21 y 42, se observan diferencias significativas para los tres grupos con respecto al grupo control negativo, a pesar del bajo nivel de anticuerpos generado (P igual o menor a 0,000).

Al comparar mediante el mismo test las medias geométricas de los IRPC de los 3 grupos vacunados entre sí, no se encontraron diferencias significativas en el nivel de anticuerpos generados al día 21 del ensayo (P=0,302) ni al día 42 del mismo (P=0,800).

Si se comparan los niveles de anticuerpos generados por el pasaje viral (control +), y las respuestas obtenidas por las vacunas, para estas últimas fueron significativamente inferiores a los niveles obtenidos por pasaje viral (P menor a 0,000).

CONCLUSIONES

La utilización de vacunas comerciales ha demostrado la capacidad desarrollar anticuerpos contra BVH1 en los diferentes grupos inoculados, sin embargo, el % de animales positivos en cada grupo fue variable, alcanzando el máximo en G2 (61,5%) y el mínimo en G3 (38,4%).

En cuanto nivel de anticuerpos generados por las diferentes vacunas utilizadas, al compararlos no se observaron diferencias significativas entre sí.

Por último, el nivel de anticuerpos fue inferior a los niveles obtenidos por pasaje viral independientemente de la vacuna utilizada. Para profundizar el análisis de este último aspecto y su vinculación con la capacidad de las vacunas en la prevención de IBR se estima conveniente en futuros trabajos realizar la prueba de seroneutralización viral.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a todo el equipo de la Escuela Provincial Agrotécnica "Florencio Peirone" que colaboró para la realización del presente trabajo: Silvina Álvarez, María Analía Pereyra, Adrián Platino, Julio Lucero, Luis De Carli y Graciela Maldonado. También se reconoce por su colaboración a María Sol Poey, Ivana Stefanazzi y Vanesa Abdala por parte del Centro Regional La Pampa-San Luis del INTA.

El presente ensayo fue realizado en el marco del "Proyecto Regional con Enfoque Territorial (PRET) "Desarrollo territorial sustentable de la región semiárida y árida de la Provincia de La Pampa" del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, N.; Rossner, M.; Balvuelta, O. (2012). Manual práctico de bienestar animal. Recomendaciones para su implementación en el manejo de bovinos de producción. EEA Colonia Benítez-Facultad de Cs. Veterinarias UNNE. Ediciones INTA. 2012.

Alvarez, E.; García Cachau, M.; Campi, A.; Larriou, E. (2002). Normas de Bioseguridad y Seguridad Laboral en Facultades de Ciencias Veterinarias de Argentina. *Revista Ciencia Veterinaria*. 2012. 4(1), 35-40.

Barboni A M.; Barandiaran S.; Cairó F; D'alessio F.; Di Gennaro E; Guida N.; Iribarren F. E.; Kotsias F.; Guillemi E; Marchetti, S.; Martiorena D. H.; Martínez Vivot M.; Mesplet M.; Moras E. V.; Muñoz A.; Parodi L.; Pidre G.; Rossano M.; Vilar G. (2009). Manual de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Universidad de Buenos Aires, p.108-1011.

FASS. Guide For the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, 3rd rev. Federation of Animal Science Societies, Savoy, IL, USA. 2010.

Fort, M.C., Marduel, M., Bedotti, D. O., Busetti M. R. y Suárez V.H. (21 al 25 de octubre de 1996). Dinámica de los anticuerpos séricos contra *Herpesvirus bovino-1* en terneras de recría. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias- Campo Grande – Brasil.

Fort, M.C., Iburguren, C., Busetti M. R. , Esain F.H. y Pérez L.R. (21 al 25 de octubre de 1996) Prevalencia de anticuerpos contra *Herpesvirus bovino-1* (BHV-1) en la población bovina de dos departamentos de la Provincia de La Pampa – Argentina XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias- Campo Grande – Brasil.

Fort M. C, Rojas M., Giménez, H, Torrado J, Lux J. (7 al 9 de noviembre de 2012) Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) y Diarrea Vírica Bovina (BDV) en rodeos de cría en la provincia de La Pampa. Congreso de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio Diagnóstico (AAVLD).

House J. (1980) Prevención y control de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina. *Boletín de la oficina sanitaria panamericana*. 88(1) p 35-44.

Kamaraj G.; Rana S. K.; V.A. Srinivasan V.A.(2009) Serological response in cattle immunized with inactivated oil and Algel adjuvant vaccines against infectious bovine rhinotracheitis. *New Microbiologica*, 32, 135-141

Odeón A. Enfermedad Respiratoria Bovina ¿Qué Es Posible Hacer Para Su Control? INTA. EEA Balcarce. Grupo de Sanidad Animal. 2015. Recuperado de:

https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmpinta_enfermedad_respiratoria_bovina.pdf

Último acceso: 10/4/2023

Ríos Utrera, Ángel, Rosete Fernández, J. V., Zárate Martínez, J. P., Fragoso Islas, A., Olazarán Jenkins, S., Granados Zurita, L., Banda Ruiz, V. M., & Socci Escatell, G. A. (2019). RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA: DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANTICUERPOS EN VACAS MEXICANAS NO ACUNADAS DE LOS ESTADOS DE TABASCO, PUEBLA Y VERACRUZ. *Revista Científica De La Facultad De Ciencias Veterinarias De La Universidad Del Zulia*, 28(5), 349 - 359. Recuperado a partir de <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/29763>

Romera S. (2001). Inmunomodulación de la respuesta inmune inducida por vacunas inactivadas contra herpesvirus bovino-1. Tesis para obtener el grado de Doctor en la Universidad de Buenos Aires.

Valera A.; Alvarado Pinedo F; Armendariz M.; Galosi C.M. (13 al 15 de noviembre de 2002) Vacunación intensiva utilizando una vacuna comercial contra ibr/ dnb: evaluación de la respuesta inmune. XIV Reunión Científico Técnica de la de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, Villa General Belgrano, Córdoba. Recuperado de:

https://www.academia.edu/20516186/Vacunaci%C3%B3n_intensiva_utilizando_una_vacuna_comercial_contra_ibr_dnb_evaluaci%C3%B3n_de_la_respuesta_inmune

Ultimo acceso:10-4-2023