

POTENCIA Y EFICACIA DE LAS VACUNAS FRENTE A LA RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA

Viviana Parreño¹, Virginia Barros² y Alejandra Romera¹. 2013. PV ALBEITAR 09/2013.

1.-Instituto de Virología, CICVyA, INTA Castelar, Argentina.

2.-Servicio de control de vacunas virales no vesiculares, DILAB, SENASA, Argentina.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)

INTRODUCCIÓN

En general, las vacunas contra BoHV-1 disponibles en el mercado evitan la manifestación de síntomas clínicos graves y reducen la liberación del virus después de la infección, pero no evitan la infección.

El herpesvirus bovino 1 (BoHV-1) es el agente etiológico de la rinotraqueítis infecciosa bovina, enfermedad respiratoria, reproductiva y eventualmente neurológica del ganado bovino doméstico y salvaje, de distribución mundial.

La enfermedad provoca un amplio rango de manifestaciones clínicas que incluyen rinotraqueítis, vulvovaginitis/balanopostitis pustular infecciosa, conjuntivitis, aborto, enteritis y también encefalitis. Los casos de enfermedad respiratoria o genital provocados por BoHV-1, en ausencia de complicaciones bacterianas secundarias, tienen una duración promedio de 5-10 días. La infección por BoHV-1 comprende tres diferentes estadios: enfermedad aguda, latencia y reactivación.

LA TRANSMISIÓN DE LA INFECCIÓN

En la infección respiratoria directa, el virus penetra en el animal por vía nasal, a través de aerosoles o por contacto de mucosas entre animales infectados, y se replica en el tracto respiratorio. Después se disemina y replica en la conjuntiva ocular y mediante su transporte por el axón de las neuronas alcanza el ganglio trigémino.

En una infección genital, el agente se replica en la mucosa genital y se establece de forma latente en los ganglios sacros. Una vez superada la fase aguda de la enfermedad, el ganado se recupera, aunque el virus se aloja en las neuronas y se mantiene latente de por vida: el animal no presenta síntomas y no puede diferenciarse de los animales vacunados, ya que ambos presentan los mismos anticuerpos.

El estrés asociado a diferentes manejos, como el transporte o el parto, puede inducir la reactivación de la infección latente. Así, los animales seropositivos se convierten en una importante fuente de transmisión de la infección.



Signos clínicos de IBR (desde la izquierda): conjuntivitis, vulvovaginitis y rinitis.

LA ERRADICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR BOHV-1

La infección por BoHV-1 induce una respuesta inmunitaria en 7–10 días. Los anticuerpos neutralizantes pueden persistir hasta cinco años después de la infección si son reestimulados (reactivación o vacunación) adecuadamente. Los anticuerpos evaluados por técnicas de ELISA que utilizan el virus completo, permanecen detectables toda la vida. Si bien la protección frente a la infección está dada principalmente por la inmunidad celular, niveles elevados de anticuerpos se asocian a mayores índices de protección al desafío experimental.

En varios países de Europa se están realizando campañas de erradicación con o sin vacunación (obligatorias o voluntarias) que han tenido éxito en Noruega, Finlandia, Suecia, Austria, Dinamarca, Suiza y algunas regiones de Italia y Alemania. En el resto del mundo (incluyendo toda América y países europeos como España) la infección es endémica. Las diferencias del estatus sanitario frente a IBR en los diferentes países de la Comunidad Europea han generado restricciones para la libre circulación del ganado y sus productos. Esta normativa impulsa a todos los países con producción pecuaria a optimizar sus planes de control y aumentar la calidad de sus herramientas sanitarias (métodos de diagnóstico, vacunas, métodos de control de potencia y eficacia de dichas vacunas).

En general, las vacunas contra BoHV-1 disponibles en el mercado evitan la manifestación de síntomas clínicos graves y reducen la liberación del virus después de la infección.

En la actualidad se dispone de varias vacunas con BoHV-1 atenuado e inactivado. Para los planes de erradicación se recomienda el uso de vacunas marcadoras o DIVA (que permiten la diferenciación entre animales infectados y vacunados) y se basan en mutantes delecionados (por ejemplo gE-) y su aplicación conlleva el uso de pruebas diagnósticas paralelas que permiten distinguir entre el ganado infectado y el ganado vacunado. Este tipo de vacunas se utiliza en Europa en los países que aplican programas de erradicación con campañas de vacunación. En algunos países, los animales infectados restantes se eliminan dando como resultado una región libre de BoHV-1. En países endémicos, como Argentina, Brasil y España se aplican programas voluntarios de vacunación intensiva que logran reducir la prevalencia de los animales infectados.

Los organismos de control internacional (APHIS, USA; EMEA-CVMP, UE; OIE; VICH) exigen para la aprobación de vacunas que contienen IBR ensayos de potencia y eficacia en la especie de aplicación, que implican la vacunación e infección de bovinos susceptibles y seronegativos. Una vez aprobado el producto, el control de calidad de cada serie debe realizarse por medio de una prueba de potencia que determine la inmunogenicidad del producto en bovinos o en otro modelo animal de laboratorio (prueba in vivo) que haya sido estadísticamente validado y posea un grado de concordancia aceptable respecto de la prueba de potencia en la especie destino y que funcione como una herramienta predictiva de la eficacia de la vacuna. Es por ello que en Argentina se decidió desarrollar y validar una prueba estandarizada en animales de laboratorio (cobayas) que permita evaluar la potencia de cada lote de vacuna, garantizando así la presencia en el mercado de productos eficaces. En relación al bienestar animal, la prueba en cobayas es sólo serológica y no implica maniobras cruentas para los animales, por lo que cumple con el principio de la 3 R (reducción, reemplazo y refinamiento).

CONTROL DE POTENCIA EN COBAYAS

El modelo desarrollado en Argentina se trata de un ensayo in vivo que utiliza 6 cobayas por vacuna y 3 testigos/placebos y sólo una toma de muestras a los 30 días posvacunación. Es importante destacar que las cobayas son una especie libre de BoHV-1 y, por lo tanto, naturalmente seronegativas para anticuerpos contra este agente viral. Además, con el volumen de muestra obtenida se puede evaluar la calidad de las vacunas polivalentes para todos los antígenos virales que la componen; las que, en algunos casos llegan a contener hasta cuatro valencias virales.

La validación del modelo indicó que la respuesta de anticuerpos inducida por las vacunas de BoHV-1 en bovinos y cobayas fue directamente proporcional a la concentración de antígeno vacunal y permite diferenciar las vacunas en tres categorías: no satisfactoria, satisfactoria y muy satisfactoria. Se evaluaron vacunas representativas de cada categoría en una prueba de desafío experimental con IBR en bovinos seronegativos, demostrándose diferente grado de protección para cada categoría.

El modelo de cobaya presentó una concordancia casi perfecta con el del bovino para clasificar las vacunas y logró predecir adecuadamente no sólo la calidad inmunogénica de las vacunas, sino también su grado de eficacia frente al desafío experimental en bovinos. Las vacunas clasificadas como muy satisfactorias o satisfactorias por el modelo cumplieron con los requisitos exigidos por el CFR americano y el manual de diagnóstico y vacunas de los animales terrestres de la OIE para su aprobación. La prueba fue evaluada por el SENASA-Argentina durante tres años (2008-2010) y actualmente ha sido adoptada como prueba oficial para el control de vacunas de IBR en Argentina.

La prueba propuesta no necesita infraestructura ni tecnología compleja, sólo un bioterio con cobayas y técnicas serológicas corrientes (ELISA, VN) de uso rutinario en los laboratorios de virología.

Puntos de corte determinados por ELISA (expresados como el \log_{10} de la inversa de la dilución de suero analizado que resulta positiva en el ensayo) y por neutralización viral (VN) (expresados como títulos de anticuerpos neutralizantes calculados por el método de Reed y Muench)			
Especie	Potencia de la vacuna		
	No satisfactoria	Satisfactoria	Muy satisfactoria
ELISA			
Cobaya	<1,93	$\geq 1,93 < 3,02$	$\geq 3,02$
Bovina	<1,69	$\geq 1,69 < 2,72$	$\geq 2,72$
Neutralización viral, VN			
Cobaya	<1,31	$\geq 1,31 < 2,05$	$\geq 2,05$
Bovina	<1,27	$\geq 1,27 < 1,96$	$\geq 1,96$

Titulo promedio de anticuerpos de grupos de cinco cobayas, evaluado a los 30 días posvacunación (dpv) y grupos de cinco bovinos seronegativos evaluados a los 60 dpv. Los bovinos reciben dos dosis de vacuna con un intervalo de 30 días y se muestrean a los 0 y 60 dpv. Las cobayas reciben dos dosis de vacuna (1/5 del volumen de la dosis bovina) con un intervalo de 21 días y se muestrean a los 0-30 dpv.

BIBLIOGRAFÍA

- OIE. Chapter 2.4.13. Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris, France; Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2010. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.13_IBR_IPV.pdf
- CFR.113.216. Bovine Rhinotracheitis Vaccine, killed virus, editor.: US Government printing office, 1985, : 670-1.
- Pidone, C.L., Galosi, C.M., Etcheverrigaray, M.E. Herpesvirus bovinos 1 y 5. Artículo de revisión. *Analecta veterinaria* 1999; 19, ½:40-50.
- Ackermann M, Engels M. Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary microbiology* 2006 Mar 31;113(3-4):293-302.
- Campos FS, Franco AC, Hubner SO, Oliveira MT, Silva AD, Esteves PA, et al. Highprevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle insouthern Brazil. *Vet Microbiol* 2009;139(1-2):67-73.
- Odeón ACS, E.J.A, Paloma, E.J.,Leunda, M.R., Fernández Sainz, I.J., Pérez SE, Kaiser, G.G., Draghi, M.G.; Cetrá, B.M. Cano, A. . Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, Herpesvirus Bovino y Virus Sincicial Respiratorio en Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria* 2001;82(4):216-20.
- Moore DP, Campero CM, Odeon AC, Bardon JC, Silva-Paulo P, Paolicchi FA, et al. Humoral immune response to infectious agents in aborted bovine fetuses in Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2003 Jul-Sep;35(3):143-8.
- Puntel MR, A., Sadir A, Borca, M., inventor P040102842. Acta N° 02 01 04305, assignee. Método para obtener la cepa mutada recombinante del virus Herpes Bovino de tipo 1, plásmido vector y vacuna. Argentina. 2002 11-11-2002.
- EMEA/P038/97. Position Paper on Batch Potency Testing Of Immunological Veterinary Medical Products. In: CVMP/IWP VMEU, editor.: The European Agency for the Evaluation of Medical Products, 1998.
- Hendriksen C. Replacement, reduction and refinement alternatives to animal use in vaccine potency measurement. *Expert Rev Vaccines* 2009 Mar;Mar:313-22. Halder M, Hendriksen C, Cussler K, Balls M. ECVAM's contributions to the implementation of the Three Rs in the production and quality control of biologicals. *Altern Lab Anim* 2002 Jan-Feb;30(1):93-108.
- Hendriksen CF. Validation of tests methods in the quality control of biologicals. *Dev Biol Stand* 1999;101:217-21.
- Taffs RE. Potency tests of combination vaccines. *Clin Infect Dis* 2001 Dec 15;33 Suppl 4:S362-6.
- Parreño, V; López; MV; Rodriguez, D; Vena, MM, Izuel, M; Filippi, J; Romera, A; Faverin, C; Bellinzoni, R, Fernandez, F and Marangunich, L. Development and Statistical Validation of a Guinea Pig model for Vaccine Potency testing against Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (IBR). *Vaccine* 28 (2010) 2539-2549.
- Parreño, Viviana, Romera, S. Alejandra; Makek, Lucia; Rodriguez, Daniela ; Malacari, Dario; Maidana Silvina; Comparred Diego; Combessies, Gustavo; Vena, Maria Marta ; Garaicoechea, Lorena; Wigdorovitz, Andrés; Marangunich, Laura and Fernandez, Fernando. Standardization and Statistical Validation under ISO/IEC 17025 standards of an indirect ELISA to detect antibodies against BoHV-1 in Bovine and Guinea Pig serum. *J. Virol. Methods*, 2010 Oct;169(1):143-53.
- Kramps JA, Banks M, Beer M, Kerkhofs P, Perrin M, Wellenberg GJ, et al. Evaluation of tests for antibodies against bovine herpesvirus 1 performed in national reference laboratories in Europe. *Veterinary microbiology* 2004 Sep 8;102(3-4):169-81.
- OIE. Principles of Validation of Diagnosis Assays For Infectious Diseases. In: anual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris, France: OIE, 2008: 34-45.
- Virginia Barros, Viviana Parreno, Daniela Rodriguez, Valeria Gonzalez, Ricardo D'Aloia, LauraMarangunich, Virginia Lopez, Fernando Fernandez, Eduardo Maradei. Implementation of the INTA Guinea pig model as the official test to evaluate the immunogenicity of BoHV-1 inactivated vaccines present in the Argentinean market. 31st Annual Meeting American Society for Virology, University of Wisconsin-Madison, July 21 - 25, 2012.
- Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 in cattle in Galicia (NW Spain). C. Eiras, F. J. Dièguez, M. L. Sanjuán, E. Yus and I. Arnaiz. Available online at www.inia.es/sjar ISSN: 1695-971-X

- 19- Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovineherpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. M.S. Silva, M.C.S. Bruma, E.L.S. Loreto, R. Weiblen, E.F. Flores. *Virus Research* 129 (2007) 191–199.

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)