



Producción de anticuerpos séricos en respuesta a la vacunación contra los virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y la diarrea viral bovina con una vacuna comercial



Jorge Víctor Rosete Fernández ^a

Guadalupe Asunción Socci Escatell ^b

Abraham Fragoso Islas ^a

Sara Olazarán Jenkins ^a

Ángel Ríos Utrera ^{c*}

^a Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Sitio Experimental Las Margaritas. Km. 9.5 carretera Hueytamalco-Tenampulco, Hueytamalco, Puebla, México.

^b INIFAP. CENID Salud Animal e Inocuidad. Ciudad de México, México

^c Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Veracruz, Veracruz, México.

*Autor de correspondencia: ariosu@hotmail.com

Resumen:

El objetivo fue determinar la prevalencia de anticuerpos séricos (PAS) en respuesta a la vacunación contra los virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB) y diarrea viral bovina (DVB) en vacas lecheras en condiciones subtropicales. Se utilizó una vacuna polivalente comercial con virus inactivado de la DVB y virus activos modificados de la RIB, parainfluenza 3 y síndrome respiratorio bovino. Se formaron dos grupos: grupo experimental vacunado (GEV) y no vacunado (GEN), que fueron homogéneos en PAS contra RIB y DVB antes de la vacunación. El GEV se inmunizó el día 0 y el día 30 después

de la primera vacunación (vacuna de refuerzo). Para detectar anticuerpos, se obtuvieron muestras de suero 30 días después de la primera y segunda vacunación. Los anticuerpos séricos contra RIB y DVB se determinaron mediante la prueba de ELISA. La PAS promedio contra RIB y DVB antes de la vacunación fue 16 (18 % en el GEV vs 14 % en el GEN; $P>0.05$) y 8 % (10 % en el GEV vs 6 % en el GEN; $P>0.05$), respectivamente. La primera y segunda vacunación contra RIB indujeron la formación de anticuerpos 30 días después de su aplicación; con la primera vacunación, la PAS en las vacas vacunadas fue 36 unidades porcentuales mayor ($P<0.05$) que en las no vacunadas (58 vs 22 %) y con la vacuna de refuerzo, la PAS en las vacas vacunadas fue 66 unidades porcentuales mayor ($P<0.05$) que en las no vacunadas (94 vs 28 %). La vacuna comercial no indujo la producción de anticuerpos contra DVB con ninguna de las dos inmunizaciones.

Palabras clave: Rinotraqueitis infecciosa bovina, Diarrea viral bovina, Vacuna polivalente, Virus activo modificado, Virus inactivado, Anticuerpos séricos, Vacas lecheras.

Recibido: 06/04/2020

Aceptado: 29/06/2020

Introducción

La rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB), también conocida como vulvovaginitis pustular infecciosa, es una enfermedad que afecta a bovinos domésticos y rumiantes salvajes, y es causada por el Herpesvirus bovino Tipo 1 (BHV-1), miembro del género *Varicellovirus* de la familia Herpesviridae. Este virus produce infecciones respiratorias (virus subtipo 1.1), genitales (virus subtipo 1.2) y neurológicas (virus subtipo 1.3); sin embargo, a pesar de que se han distinguido varios subtipos, solo hay un tipo antigénico importante en la reproducción de los bovinos, el BHV-1⁽¹⁾. La importancia de detectar el tipo BHV-1 en los hatos bovinos, radica en que causa disminución en la productividad de las vacas, debido a fallas reproductivas, y afecciones respiratorias en becerros jóvenes⁽²⁾. La RIB puede pasar desapercibida cuando los animales no manifiestan signos clínicos, pero el virus permanece latente, alojado en órganos blanco, de tal manera que, si la infección se adquiere vía genital, éste se replica en la mucosa vaginal o prepucial y se establece en los nodos sacros. El estrés por el parto, el transporte o el manejo, inducen la reactivación de la infección y los animales, aún sin signos de la enfermedad, eliminan el virus al ambiente, actuando como portadores aparentemente sanos, los cuales constituyen el principal factor de riesgo de la enfermedad⁽¹⁾.

En México, la RIB se ha identificado en hatos lecheros del altiplano⁽³⁾ y se ha documentado su relación con problemas reproductivos⁽⁴⁻⁷⁾. En ganaderías del trópico húmedo se ha identificado la presencia de la RIB y se ha estudiado su prevalencia e incidencia^(8,9), pero no se ha reportado si la producción de anticuerpos en respuesta a la vacunación es apropiada, por lo que es conveniente realizar este tipo de estudios en bovinos del trópico y subtropical, para controlar la transmisión de la enfermedad.

Adicionalmente, la diarrea viral bovina (DVB) también se ha identificado como una enfermedad que afecta la reproducción en las vacas, las cuales manifiestan baja fertilidad, repetición de estros, reabsorción embrionaria y abortos^(6,10). Después del nacimiento, neumonía, conjuntivitis y úlceras en nariz y boca son frecuentes en las crías^(6,11,12), por lo que la vacunación se ha utilizado para controlar la DVB en hatos ganaderos⁽¹³⁾, pero se debe tener certeza de la efectividad de la vacuna mediante la medición de anticuerpos generados en el hato, debido a que el tipo de vacuna recomendado ha sido el de virus inactivado, por no causar aborto en vacas o vaquillas gestantes y no generar infección vacunal en los animales⁽¹⁴⁾. En ganaderías del trópico húmedo se ha identificado la presencia de la DVB, estudiándose la prevalencia e incidencia de esta enfermedad^(9,15); sin embargo, no se ha determinado la producción de anticuerpos en respuesta a la vacunación, para asegurar la protección inmunológica y establecer un mecanismo de control.

El objetivo fue determinar la prevalencia de anticuerpos séricos en respuesta a la vacunación subcutánea contra los virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB) y la diarrea viral bovina (DVB) en vacas lecheras en condiciones subtropicales de México.

Material y métodos

Localización del estudio

El estudio se realizó en un hato lechero del Campo Experimental Las Margaritas, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en la región oriente del estado de Puebla a 20° 00' 07.86" N y 97° 18' 19.08" O, a 545 msnm, con temperatura media anual de 21°C y precipitación pluvial anual de 2,500 mm.

Grupos experimentales

Se utilizaron 100 hembras bovinas de las razas Suizo Americano y Holstein en pastoreo rotacional de zacate Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*), que nunca se habían vacunado contra RIB y DVB. Las hembras se dividieron en dos grupos experimentales con 50 individuos cada uno. A un grupo se le aplicó una vacuna comercial; el otro grupo

consistió de hembras testigo no vacunadas. La conformación de los dos grupos experimentales fue similar, de tal forma que el grupo vacunado tuvo 33 vacas en lactancia (7 gestantes y 26 vacías), 10 vacas secas gestantes y 7 vaquillas, mientras que el grupo no vacunado estuvo formado de 34 vacas en lactancia (7 gestantes y 27 vacías), 9 vacas secas gestantes y 7 vaquillas. Además, para homogenizar los dos grupos en cuanto a prevalencia de anticuerpos séricos, se les realizó un primer diagnóstico serológico de anticuerpos contra los virus de la RIB y la DVB, antes de la vacunación. Se cuidó que la condición corporal (1=emaciada; 5=obesa) no descendiera de 2.5 unidades.

Protocolo de vacunación

El grupo experimental vacunado se inmunizó por primera vez el día 0; posteriormente se inmunizó el día 30 con una vacuna de refuerzo, aplicando por vía subcutánea 2 ml de una vacuna polivalente comercial en cada inmunización. Sin embargo, el protocolo de vacunación recomendado por el laboratorio consiste en dos aplicaciones subcutáneas de 2 ml cada una con un intervalo de 21 días. La vacuna utilizada en las dos inmunizaciones fue del mismo lote. Ésta consistió de dos fracciones independientes; una preparación liofilizada de cepas activas modificadas químicamente de los virus de la RIB, parainfluenza 3 y síndrome respiratorio sincitial bovino, y una preparación líquida (diluyente) de virus inactivado de DVB tipos 1 y 2 (cepas citopáticas y no citopáticas). Los antígenos virales se propagaron en una línea celular establecida por el laboratorio. Además, la vacuna contenía una combinación de adyuvantes, no descritos por el fabricante, incluido el Amphigen como mejorador de la respuesta inmune. Desde su adquisición, la vacuna se conservó a 4 °C hasta el momento de su aplicación. Durante la vacunación, ésta se mantuvo a la sombra en una hielera con abundantes refrigerantes (5 a 7 °C), de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Durante el desarrollo del experimento, ningún animal mostró signos clínicos atribuibles a las enfermedades relacionadas con la vacuna o cualquier otra enfermedad.

Muestreo sanguíneo y obtención de suero post-vacunación

Treinta (30) días después de cada inmunización, se tomaron muestras de sangre a los dos grupos experimentales, para determinar la producción de anticuerpos en respuesta a la primera vacunación y a la vacuna de refuerzo. Las muestras de sangre se recolectaron en tubos al vacío de 6 ml que contenían gel separador de coágulo. Las muestras se centrifugaron a 4,000 rpm durante 10 min, para la obtención de suero sanguíneo. Los sueros recolectados se depositaron en viales de polipropileno de 6 ml y posteriormente se congelaron a -20 °C hasta el análisis de laboratorio.

Análisis de laboratorio

El diagnóstico serológico para la detección de anticuerpos contra los virus de la RIB y de la DVB se realizó con los kits CIVTEST BOVIS IBR y CIVTEST BOVIS BVD/BD P80 (Laboratorios Hipra, S.A., México), basados en la prueba de ELISA, cuya sensibilidad y especificidad es 96.3 y 99.5 %, respectivamente. En ambos diagnósticos serológicos, la lectura se realizó a una densidad óptica de 450 nanómetros, en un espectrofotómetro ELx800, marca BioTek (BioTek Instruments, Inc., EUA).

Variables de respuesta y análisis estadísticos

Para cada enfermedad, se analizaron tres variables de respuesta: 1) prevalencia de anticuerpos séricos antes de la vacunación (día 0); 2) prevalencia de anticuerpos séricos 30 días después de la primera vacunación (día 30), que se consideró como la producción de anticuerpos en respuesta a la primera vacunación; y 3) prevalencia de anticuerpos séricos 30 días después de la segunda vacunación (día 60), que se consideró como la producción de anticuerpos en respuesta a la vacuna de refuerzo. Las variables de respuesta se trataron como variables binarias, por lo que la prevalencia de anticuerpos se registró como 1 cuando una hembra tuvo anticuerpos séricos en el día 0 antes de la vacunación, 30 días después de la primera vacunación o 30 días después de la vacuna de refuerzo; en caso contrario, la prevalencia de anticuerpos séricos se registró como 0. La información se analizó con el procedimiento GENMOD (PROC GENMOD) del programa SAS, ajustando un modelo de regresión logística que incluyó el efecto fijo de la vacunación o tratamiento (grupo experimental vacunado, grupo experimental no vacunado), en una distribución binomial y aplicando una función liga logit. El criterio de convergencia fue 10^{-8} en los seis análisis estadísticos. En análisis preliminares se determinó que el estatus de la hembra (en lactancia, seca, vaquilla) no afectó ninguna de las variables de respuesta analizadas ($P > 0.05$), por lo que no se incluyó en el modelo definitivo.

Resultados

La significancia estadística del efecto del tratamiento, por variable de respuesta y enfermedad se muestra en el Cuadro 1. Antes de la vacunación, la prevalencia de anticuerpos séricos contra el virus de la RIB, así como contra el virus de la DVB, fue similar ($P > 0.05$) en los grupos experimentales vacunado y no vacunado, por lo que los dos grupos fueron homogéneos en anticuerpos contra los virus de la RIB y la DVB antes de la vacunación. El tratamiento afectó ($P < 0.001$) la producción de anticuerpos contra el virus de la RIB a la primera y segunda vacunación (vacuna de refuerzo); sin embargo, contrario a lo esperado, no afectó ($P > 0.05$) la formación de anticuerpos contra el virus de la DVB a ninguna de las dos inmunizaciones.

Cuadro 1: Significancia estadística del efecto del tratamiento, por variable de respuesta y enfermedad

Enfermedad	Variable de respuesta (prevalencia de anticuerpos)		
	Antes de la vacunación	A la primera vacunación	A la vacuna de refuerzo
RIB	0.5850	0.0002	<0.0001
DVB	0.4588	0.1769	0.1042

RIB= rinotraqueitis infecciosa bovina; DVB= diarrea viral bovina.

En el Cuadro 2 se presentan las prevalencias de anticuerpos séricos contra el virus de la RIB y sus errores estándar e intervalos de confianza al 95 %, antes de la vacunación, por grupo experimental. Las prevalencias fueron 18 y 14 % para los grupos experimentales vacunado y no vacunado, respectivamente; la prevalencia promedio de los dos grupos fue 16 %.

Cuadro 2: Prevalencias (%) de anticuerpos séricos contra el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y sus errores estándar e intervalos de confianza al 95 %, antes de la vacunación, por grupo experimental

Grupo experimental	Número de animales	Animales positivos	Prevalencia de anticuerpos	Intervalo de confianza
Vacunado	50	9	18.0 ± 5.4 ^a	9.1 - 31.9
No vacunado	50	7	14.0 ± 4.9 ^a	6.3 - 27.4
Total	100	16	16.0 ± 5.5	9.7 - 25.0

^a Prevalencias con la misma literal no son diferentes ($P>0.05$).

Las prevalencias de anticuerpos séricos contra el virus de la DVB y sus errores estándar e intervalos de confianza al 95 %, antes de la vacunación, por grupo experimental, se muestran en el Cuadro 3. Las prevalencias para los grupos experimentales vacunado y no vacunado fueron 10 y 6 %, respectivamente; la prevalencia promedio de los dos grupos fue 8 %.

Cuadro 3: Prevalencias (%) de anticuerpos séricos contra el virus de la diarrea viral bovina y sus errores estándar e intervalos de confianza al 95%, antes de la vacunación, por grupo experimental

Grupo experimental	Número de animales	Animales positivos	Prevalencia de anticuerpos	Intervalo de confianza
Vacunado	50	5	10.0 ± 4.2 ^a	4.2 - 21.9
No vacunado	50	3	6.0 ± 3.4 ^a	1.9 - 17.0
Total	100	8	8.0 ± 3.8	3.0 - 19.4

^aPrevalencias con la misma literal no son diferentes ($P>0.05$).

En el Cuadro 4 se presentan las prevalencias de anticuerpos séricos contra el virus de la RIB a la primera y segunda vacunación. La primera y segunda vacunación contra el virus de la RIB indujeron la producción de anticuerpos 30 días después de su aplicación; con la primera vacunación, la prevalencia de anticuerpos séricos en las vacas vacunadas fue 36 unidades porcentuales mayor ($P<0.05$) que en las vacas no vacunadas (58 vs 22 %); con la vacuna de refuerzo, la prevalencia de anticuerpos séricos en las vacas vacunadas fue 66 unidades porcentuales mayor ($P<0.05$) que en las vacas no vacunadas (94 vs 28 %).

Cuadro 4: Prevalencias (%) de anticuerpos séricos contra el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y sus errores estándar e intervalos de confianza al 95%, por grupo experimental

Grupo experimental	No. de animales	Primera inmunización			Inmunización de refuerzo		
		Positivos	Prevalencia	IC	Positivos	Prevalencia	IC
				44.1			83.0
Vacunado	50	29	58.0 ± 7.0 ^a	70.8	47	94.0 ± 3.4 ^a	98.1
				12.6			17.3
No vacunado	50	11	22.0 ± 5.9 ^b	35.5	14	28.0 ± 6.4 ^b	41.9

IC= intervalo de confianza.

^{ab}Prevalencias con distinta literal son diferentes ($P<0.05$).

Las prevalencias de anticuerpos séricos contra el virus de la DVB a la primera y segunda vacunación se muestran en el Cuadro 5. La producción de anticuerpos en las hembras vacunadas no fue satisfactoria con ninguna de las dos inmunizaciones; con la vacuna inicial las prevalencias de anticuerpos séricos para los grupos experimentales vacunado y no vacunado fueron 14 y 6 %, respectivamente; con la vacuna de refuerzo fueron 16 y 6 %, respectivamente.

Cuadro 5: Prevalencias (%) de anticuerpos séricos contra el virus de la diarrea viral bovina y sus errores estándar e intervalos de confianza al 95%, por grupo experimental

Grupo experimental	No. animales	Primera inmunización			Inmunización de refuerzo		
		Positivos	Prevalencia	IC	Positivos	Prevalencia	IC
				6.8			8.2
Vacunado	50	7	14.0 ± 4.9 ^a	26.6	8	16.0 ± 5.2 ^a	28.9
				1.9			1.9
No vacunado	50	3	6.0 ± 3.4 ^a	17.0	3	6.0 ± 3.4 ^a	17.0

^aPrevalencias con la misma literal no son diferentes ($P>0.05$).

Discusión

Rinotraqueitis infecciosa bovina

En el presente estudio, la prevalencia promedio de anticuerpos séricos contra el virus de la RIB fue 16.0 %, la cual es de consideración para un hato sin antecedentes de vacunación; por lo tanto, los animales deberían ser incluidos en un programa de vacunación para protegerlos de la enfermedad y evitar problemas reproductivos. La prevalencia de anticuerpos séricos contra el virus de la RIB observada en este estudio resultó ser menor que las observadas en bovinos en pastoreo en el estado de Veracruz, con valores de 58.6⁽¹⁶⁾ y 76.3 %⁽¹⁷⁾; sin embargo, es superior a la observada (5.3 %) en ganado Cebú, Suizo Pardo y Holstein en Tizimín, Yucatán⁽¹⁸⁾. Estas prevalencias identificadas en bovinos mantenidos en clima tropical, al igual que las observadas en el altiplano mexicano, particularmente la del estado de Hidalgo, que fue de 35.2 %⁽¹⁹⁾, ponen de manifiesto la circulación del virus en el hato con el riesgo de que los animales se enfermen y la necesidad de su control en México. En una revisión de literatura que resumió información de estudios mexicanos publicados de 1975 a 2016, se estimó una prevalencia de anticuerpos contra el virus de la RIB de 56.4 %⁽²⁰⁾.

Fuera de México, en hatos lecheros de Toca-Boyacá y Caquetá, Colombia, se encontraron prevalencias de 35.7⁽²¹⁾ y 90.0 %⁽²²⁾, respectivamente; en Valle de Cauca, en bovinos de carne, se encontró una prevalencia de 69.8 %⁽²³⁾. En Perú y Chile se han encontrado prevalencias con valores de 29.0⁽²⁴⁾, 67.6⁽²⁵⁾, 36.0⁽²⁶⁾ y 76.0 %⁽²⁷⁾. Debido a su detección en estos y muchos otros países, el virus de la RIB (HVB-1) es considerado como uno de los agentes patógenos de mayor distribución en el mundo⁽²⁸⁾. Sin embargo, a pesar de que existen múltiples productos biológicos para la inmunización de los animales⁽²⁹⁾, se piensa que es uno de los mayores generadores de pérdidas económicas en la producción pecuaria,

tanto de carne, como de leche. Los bovinos asintomáticos constituyen el reservorio más importante, porque pueden excretar el virus de forma intermitente y transmitirlo a bovinos sanos⁽³⁰⁾.

Con la primera vacunación, la prevalencia de anticuerpos en las vacas vacunadas (58 %) fue mayor ($P<0.05$) que la prevalencia de anticuerpos observada en las no vacunadas (22 %). Esto permite interpretar que hubo producción de anticuerpos en respuesta a la primera vacunación contra el virus de la RIB, pero relativamente leve. Sin embargo, con la vacuna de refuerzo, la prevalencia de anticuerpos en las vacas vacunadas aumentó considerablemente hasta llegar a 94 %, prevalencia que fue mucho mayor ($P<0.05$) que la encontrada en las vacas no vacunadas (28 %), por lo que el incremento sustancial de anticuerpos refuerza la interpretación de una producción de anticuerpos favorable con la segunda inmunización; por lo tanto, se puede inferir que el virus activo modificado de la vacuna comercial sí produjo protección inmunológica contra el virus de la RIB. Con este protocolo de vacunación (vacuna inicial + vacuna de refuerzo), se considera que es factible proteger a los bovinos contra el virus de la RIB, en particular hembras, que son las que por efecto de la enfermedad padecen infecciones en el tracto genital, como vulvovaginitis pustular infecciosa, metritis⁽⁸⁾, mastitis, abortos, repetición de servicios, infección fetal y anestro^(31,32).

La magnitud de la producción de anticuerpos observada en el presente estudio no se logró en un estudio donde se utilizó, en dosis única, una vacuna intranasal de virus atenuados de RIB y PI3 (TSV-2), la cual resultó poco inmunogénica, pues solo 33.3 % de los animales produjeron anticuerpos 28 días después de la vacunación⁽³³⁾; es probable que con la vía intranasal se requiera una segunda inmunización, o más, para lograr una mejor respuesta inmunológica. En otra investigación donde se utilizó vacuna con virus activo modificado, el porcentaje de abortos en hembras vacunadas fue 5 % y en no vacunadas 73 %⁽³⁴⁾, por lo que se puede inferir que la vacuna previno sustancialmente el aborto. Algo similar sucedió en el presente estudio, pues no se observó ningún aborto; sin embargo, en la investigación citada⁽³⁴⁾ no se determinó si el bajo porcentaje de abortos (5 %) se debió al efecto de la vacunación, por lo que se pudo deber a otros factores. En consecuencia, parece mejor utilizar vacuna de virus activo modificado para proteger contra el virus de la RIB, en especial a hembras en edad reproductiva, ya que al replicarse el virus dentro de las células del hospedador, aumenta la inmunidad protectora⁽³⁵⁾.

En Argentina se hizo un estudio donde se utilizaron dos tipos de vacunas intradérmicas elaboradas con BHV-1 inactivado que contenía la secuencia de la versión secretada de la glicoproteína D, una elaborada con adyuvante y la otra no, las cuales se aplicaron con un refuerzo a los 20 y 33 días, asumiendo que ambas incrementaban la respuesta inmune humoral; sin embargo, solo la que tuvo adyuvante mejoró la respuesta inmune celular⁽³⁶⁾.

Diarrea viral bovina

La prevalencia promedio de anticuerpos séricos contra el virus de la DVB obtenida en el presente estudio (8 %) resultó ser menor que las reportadas (69.0 y 60.3 %) por otros autores^(37,38) para bovinos en pastoreo en el estado de Veracruz. En estudios realizados en México con vacas lecheras en los estados de Hidalgo y Aguascalientes, se encontraron prevalencias de 32.8⁽⁷⁾ y 48.6 %⁽¹⁹⁾. En una revisión de literatura que resumió información de estudios mexicanos publicados de 1975 a 2016, se estimó una prevalencia de anticuerpos contra el virus de la DVB de 59.3 %⁽³⁹⁾.

Contrario a lo esperado, en el presente estudio fue evidente que las hembras vacunadas no produjeron anticuerpos de manera satisfactoria contra el virus inactivado de la DVB, ya que se esperaba como respuesta humoral una prevalencia de anticuerpos séricos no menor a 94 %, como en la inmunización contra el virus de la RIB, por lo que con la vacuna comercial evaluada no es posible asegurar la protección inmunológica en bovinos, en particular en vacas, que son las que por efecto de la enfermedad padecen infecciones que afectan la reproducción^(6,10), y vaquillas de reemplazo, que pueden infectarse desde el nacimiento, padeciendo neumonía, conjuntivitis y úlceras en nariz y boca^(6,11,12), incluso pueden llegar a morir debido a la infección, la cual muy frecuentemente no es detectada ni diagnosticada. Por lo tanto, aunque en los últimos años las vacunas con virus inactivado se han mejorado al agregar adyuvantes potentes, la escasa producción de anticuerpos en este estudio en respuesta a la vacunación con virus inactivado obliga a probar otras opciones de control, pues se ha sugerido que una buena estrategia para superar la débil producción de anticuerpos en respuesta a la vacunación con virus inactivado, es la alternancia de inmunizaciones repetidas con vacunas de virus inactivado y vacunas de virus activo modificado, o viceversa⁽⁴⁰⁾, como se demostró en un experimento donde se utilizó un protocolo de vacunación para vaquillas, que consistió en inmunizar inicialmente con virus inactivado, cuatro semanas después con virus activo modificado, y posteriormente se revacunó anualmente con virus inactivado, mejorándose la respuesta inmune considerablemente⁽⁴¹⁾.

Por otro lado, se ha reportado que la vacunación contra DVB como única medida de control no es suficiente para prevenir la circulación del virus de campo en hatos bovinos^(42,43,44), pues se debe incluir como acción importante la eliminación de animales persistentemente infectados (PI) y usar estrategias de vacunación eficaces para la reducción de este tipo de animales, y así controlar la DVB con mayor eficiencia⁽⁴⁵⁾ después de un programa de detección de animales PI desde el nacimiento⁽⁴⁶⁾, ya que estos animales son inmunotolerantes a los virus no citopatogénicos homólogos⁽⁴⁷⁾. Por lo tanto, el no haber observado una producción de anticuerpos adecuada en los animales vacunados se pudo deber a que el hato experimental utilizado presentaba una proporción importante de

animales PI, los cuales no desarrollan anticuerpos, ya que el sistema inmune no considera al virus como un agente ajeno al organismo⁽⁴⁷⁾. Otra razón podría ser que la vacuna de virus inactivado indujo una producción de anticuerpos de corta duración, ya que ésta no promueve una memoria inmunológica en comparación con las vacunas de virus activo⁽⁴⁸⁾; en consecuencia, es muy probable que los anticuerpos inducidos por la vacuna de virus inactivado de DVB se hayan encontrado en niveles indetectables en el momento en que se realizó la prueba de ELISA, considerando que en un estudio en el que se inmunizó con dos vacunas de virus inactivado a dos grupos de animales, se obtuvo una prevalencia de anticuerpos séricos de 0 y 12.5 %, después de utilizar un kit de ELISA para detectar anticuerpos contra la proteína p80 del virus (como en el presente estudio); por el contrario, cuando se utilizó un kit de ELISA para anticuerpos contra el virus completo, se detectaron anticuerpos en el 80 y 100 % de los animales⁽⁴⁹⁾. Sin embargo, los autores del estudio⁽⁴⁹⁾ comentaron que existe discrepancia en los resultados obtenidos, ya que hay estudios previos en los que sí se logró la detección de anticuerpos con dicho kit de ELISA, argumentando que la proteína p80 se expresa mayormente durante la replicación viral, pero la replicación no sucede si se aplica vacuna de virus inactivado. Por lo tanto, si la prueba de ELISA detecta adecuadamente anticuerpos específicos contra la proteína p80 del virus de la DVB, y sabiendo que la mayor proporción de anticuerpos presentes en el suero son de clase IgG, los cuales son los que aumentan de forma significativa después de una infección natural o vacunación, sin importar si se trata de una vacuna de virus activo o inactivo, se considera que la prueba de ELISA utilizada en el presente estudio fue eficaz en la detección de anticuerpos contra el virus de la DVB inducidos por la vacuna con virus inactivado.

Adicionalmente, se ha mencionado que la seguridad y eficacia de las vacunas inactivadas pueden ser atribuibles a varios factores, entre los que se encuentran el tipo de cepa, la técnica de inactivación, el título viral y el adyuvante utilizado⁽⁵⁰⁾, por lo que quizás alguno de estos factores también pudo haber influido en la producción de anticuerpos observada. Finalmente, en este trabajo se esperaba que con la inmunización se indujera la formación de anticuerpos en los animales para establecer una “inmunidad de hato”, que evitara que el virus circulara en los animales y, así, prevenir la presentación de signos clínicos de las enfermedades, ya que se conocía la proporción de animales infectados antes de aplicar los tratamientos.

Conclusiones e implicaciones

La vacuna polivalente comercial indujo la producción de niveles satisfactorios de anticuerpos contra el virus de la RIB; sin embargo, fue necesario aplicar una segunda inmunización de refuerzo para aumentar el porcentaje de animales con anticuerpos séricos (más del 90 %). Por el contrario, dicha vacuna no indujo una producción de anticuerpos séricos adecuada contra el virus de la DVB, por lo que es de suma importancia averiguar si

dentro del hato estudiado existen animales PI. Es posible que, al aplicar la vacuna con virus inactivado, con refuerzos de virus activo modificado, o viceversa, se mejore la producción de anticuerpos en respuesta a la vacunación contra el virus de la DVB.

Literatura citada:

1. OIE. Office International des Epizooties. Rinotraqueitis bovina infecciosa/vulvovaginitis pustular infecciosa (2.3.5.). Manual de la OIE sobre animales terrestres. 2004:514-525.
2. Gu X, Kirkland PD. Infectious bovine rhinotracheitis. Australian and New Zealand Standard Diagnostic Procedure. 2008: 1-18. <https://www.agriculture.gov.au/sites/default/files/sitecollectiondocuments/animal/ahl/ANZSDP-Infectious-bovine-rhinotracheitis-IBR.pdf>. Consultado 3 Abr, 2020.
3. Reyes JM, Vázquez R, García JA. Seroprevalencia de IBR y DVB en hatos muestreados en México. 2002-2003. En: Posadas ME editores. XXVIII Congreso Nacional de Buiatría. Morelia, Michoacán, México. 2004:112.
4. Armas CA, Muñoz MCCR, Bolaños LDJ, Iñiguez MG. Determinación de agentes infecciosos causantes de abortos fetales en un hato lechero en Tizayuca, Hidalgo, México. En: Posadas ME editores. XXVIII Congreso Nacional de Buiatría. Morelia, Michoacán, México. 2004:135.
5. Escamilla HP, Morales SE, Martínez JJM, Medina CM. Frecuencia y causas de aborto de origen infeccioso en hatos de bovinos en el estado de Querétaro. En: Posadas ME editores. XXVIII Congreso Nacional de Buiatría. Morelia, Michoacán, México. 2004:111.
6. Waldner CL. Serological status for *N. caninum*, bovine viral diarrhea virus and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. Anim Reprod Sci 2005;90(3-4):219-242.
7. Meléndez SRM, Valdivia FAG, Rangel MEJ, Díaz AE, Segura-Correa JC, Guerrero BAL. Factores de riesgo asociados a la presencia de aborto y desempeño reproductivo en ganado lechero de Aguascalientes, México. Rev Mex Cienc Pecu 2010;1(4):391-401.
8. Betancur HC, Gonzales TM, Reza GL. Seroepidemiología de la rinotraqueitis infecciosa bovina en el municipio de Montería, Colombia. Rev MVZ Córdoba 2006;11(2):830-836.
9. Zárate MJP, Rosete FJV, Ríos UA, Barradas PFT, López ER, Olazarán JS, *et al.* Estado reproductivo y prevalencia de IBR y DVB en hembras bovinas en tres épocas del año en la zona centro de Veracruz. En: Posadas ME editores. XXXVIII Congreso Nacional de Buiatría. Acapulco, Guerrero, México. 2013;759-766.

10. Lértora WJ. Diarrea viral bovina: Actualización. Rev Vet FCV UNNE 2003;14(1):1-11.
11. Liebler-Tenorio EM. Pathogenesis. In: Goyal SM, Ridpath JF. editors. Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management and control. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional; 2005:121-143.
12. Rubio GJL, Betancourt MA, Karg G. Síndrome respiratorio y digestivo en terneras trasladadas a la recría. REDVET 2009;10(8):1-7.
13. Vargas DS, Jaime J, Vera VJ. Perspectivas para el control del virus de la diarrea viral bovina (BVDV). Rev Colomb Cienc Pecu 2009;22:677-688.
14. Gasque GR. Diarrea viral bovina. En: Gasque GR editor. Enciclopedia Bovina. 1ª edición. Distrito Federal, México; 2008:126-127.
15. Rosete FJV, Granados ZL, Zárate MJP, Ríos UA, Banda RVM, Socci EGA, *et al.* Prevalencia e incidencia a diarrea viral bovina en vacas de doble propósito en pastoreo en trópico húmedo. VII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Tabasco 2015 y IV Simposio Internacional en Producción Agroalimentaria Tropical. Tabasco, México. 2015:246-251.
16. De La Trinidad SH. Seroprevalencia y factores de riesgo de rinotraqueitis infecciosa bovina en ranchos ganaderos de Las Choapas, Minatitlán y Moloacán ubicados en la zona sur del estado de Veracruz, México [tesis de licenciatura]. Veracruz, Veracruz: Universidad Veracruzana; 2010.
17. Abad-Zavaleta J, Ríos-Utrera A, Rosete-Fernández JV, García-Camacho A, Zárate-Martínez JP. Prevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en hembras en tres épocas de año en la zona centro de Veracruz. Nova Scientia 2016;8(1):213-227.
18. Calderón VG, Alvarado IA, Vilchis MC, Aguilar SA, Batalla CD. Detección de seropositividad al virus de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), en ganado del municipio de Tizimín, Yucatán, México. Téc Pecu Méx 1997;35(3):161-164.
19. Sánchez-Castilleja YM, Rodríguez DJG, Pedroso M, Cuello S. Simultaneidad serológica de *Neospora caninum* con *Brucella abortus* y los virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en bovinos pertenecientes al estado de Hidalgo, México. Rev Salud Anim 2012;34(2):95-100.

20. Ríos-Utrera Á, Rosete-Fernández JV, Zárate-Martínez JP, Fragoso-Islas A, Olazarán-Jenkins S, Granados-Zurita L, *et al.* Rinotraqueítis infecciosa bovina: determinación de la prevalencia de anticuerpos en vacas mexicanas no vacunadas de los estados de Tabasco, Puebla y Veracruz. *Rev Científ, FCV-LUZ* 2018;28(5):349-359.
21. Ochoa X, Orbegozo M, Manrique AF, Pulido PM, Ospina J. Seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en hatos lecheros de Toca-Boyacá. *Rev MVZ Córdoba* 2012;17(2):2974-2982.
22. Motta GJL, Waltero GI, Abeledo MA. Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina, herpesvirus bovino 1 y herpes virus bovino 4 en bovinos y búfalos en el departamento de Caquetá, Colombia. *Rev Salud Anim* 2013;35(3):174-181.
23. Ruiz-Saenz J, Jaime J, Vera VJ. Prevalencia serológica y aislamiento del herpesvirus bovino 1 (BHV-1) en hatos ganaderos de Antioquia y del Valle de Cauca. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2010;23:299-307.
24. Pariente AE, Ccama SA, Rivera GH. Anticuerpos contra el virus causante de la rinotraqueitis infecciosa en vacunos de la provincia del Melgar, Puno. *Rev Inv Vet Perú* 2006;17(2):137-143.
25. Zacarías RE, Benito ZA, Rivera GH. Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa en bovinos criollos de Parinacochas, Ayacucho. *Rev Inv Vet Perú* 2002;13(2):61-65.
26. Sánchez TG, Benito ZA, Rivera GH. Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado lechero del Valle de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 2003;14(1):54-60.
27. Felmer A, Zúñiga AJ, López HM. Prevalencia y distribución espacial de brucelosis, leucosis bovina, diarrea viral bovina y rinotraqueitis infecciosa bovina a partir del análisis ELISA de estanques prediales en lecherías de la IX Región, Chile. *Arch Med Vet* 2009;41:17-26.
28. OIE. Office International des Epizooties. Rinotraqueitis bovina infecciosa/vulvovaginitis pustular infecciosa. (2.4.13). Manual de la OIE sobre animales terrestres. 2008:1-17.
29. Ruiz-Saenz J, Jaime J, Vera VJ. Vacunas contra el herpesvirus bovino-1: una mirada desde el pasado hacia el futuro de la inmunización. *Acta Biol Col* 2009;14(2):3-20.

30. Pérez S, Inman M, Doster A, Jones C. Latency-related gene encoded by bovine herpesvirus 1 promotes virus growth and reactivation from latency in tonsils of infected calves. *J Clinical Microbiol* 2005;43:393-401.
31. Elhassan AM, Fadol MA, El-Hussein AM. Seroprevalence of bovine herpes virus-1, bovine herpes virus-4 and bovine viral diarrhoea virus in dairy cattle in Sudan. *Pak Vet J* 2011;31(4):317-320.
32. Gür S, Doğan N. The possible role of bovine herpes virus type-4 infection in cow infertility. *Anim Sci J* 2010;81(3):304-308.
33. Vilchis MC, Sosa RM, Alvarado IA, Aguilar SA, Hernández VR, Batalla CD. Evaluación de la vacuna tsv-2 de ibr-p13 en bovinos nacionales productores de leche. *Téc Pecu Méx* 1991;29:19-23.
34. Walz PH, Montgomery T, Passler T, Riddell KP, Braden TD, Zhang Y, *et al.* Comparison of reproductive performance of primiparous dairy cattle following revaccination with either modified live or killed multivalent viral vaccines in early lactation. *J Dairy Sci* 2015;98:8753-8763.
35. OIE. Office International des Epizooties. Rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina: repercusiones en la salud animal y el comercio internacional. *Animal Diseases Research Institute*. 1998:147-156.
36. Quattrocchi V, Soria I, Langellotti CA, Gnazzo V, Gammella M, Moore PD, *et al.* A DNA vaccine formulated with chemical adjuvant provides partial protection against bovine herpes virus infection in cattle. *Front Immunol* 2017;8(37):1-11.
37. Romero SD, Montiel PT, Aguilar DM, Martínez HDI, García VZS. Prevalencia de diarrea viral bovina en el estado de Veracruz, México. En: Barradas LH, Ceja RI, Vázquez CLM editores. XXII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Veracruz, México. 2009:660-667.
38. Milián-Suazo F, Hernández-Ortíz R, Hernández-Andrade L, Alvarado-Islas A, Díaz-Aparicio E, Mejía-Estrada F, *et al.* Seroprevalence and risk factors for reproductive diseases in dairy cattle in Mexico. *J Vet Med Anim Health* 2016;8(8):89-98.

39. Rosete FJV, Ríos UÁ, Zárate MJP, Olazarán JS, Granados ZL, Fragoso IA, *et al.* Prevalencia de anticuerpos contra diarrea viral bovina en vacas no vacunadas en los estados de Puebla, Tabasco y Veracruz, México. *Rev Mex Cienc Pecu* 2018;9(3):555-566.
40. Moennig V, Eicken K, Flebbe U, Frey HR, Grummer B, Haas L, *et al.* Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVD). *Prev Vet Med* 2005;72:109-114.
41. Frey HR, Eicken K, Grummer B, Kenklies S, Oguzoglu TC, Moennig V. Foetal protection against bovine virus diarrhoea virus after two-step vaccination. *J Vet Med* 2002;49:489-493.
42. Lindberg A, Houe H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control. *Prev Vet Med* 2005;72:55-73.
43. Houe H, Lindberg A, Moennig V. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *J Vet Diag Inv* 2006;18:427-436.
44. Wernike K, Gethmann J, Schirrmeier H, Schroder R, Conraths FJ, Beer M. Six years (2011-2016) of mandatory nationwide bovine viral diarrhoea control in Germany - A success story. *Pathogens* 2017;6(50):1-8.
45. Abe Y, Tamura T, Torii S, Wakamori S, Nagai M, Mitsunashi K, *et al.* Genetic and antigenic characterization of bovine viral diarrhoea viruses isolated from cattle in Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci* 2016;78(1):61-70.
46. Barrett DJ, More SJ, Graham DA, O'Flaherty J, Doherty ML, Gunn HM. Considerations on BVD eradication for the Irish livestock industry. *Irish Vet J* 2011;64:12.
47. Khodakaram-Tafti A, Farjanikish GH. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. *Iran J Vet Res* 2017;18(3):154-163.
48. Fulton RW, Confer AW, Burge LJ, Perino LJ, d'Offay JM, Payton ME, *et al.* Antibody responses by cattle after vaccination with commercial viral vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea virus, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus immunogens and subsequent revaccination at day 140. *Vaccine* 1995;13(8):725-733.

49. González AM, Arnaiz I, Yus E, Eiras C, Sanjuán M, Diéguez FJ. Evaluation of long-term antibody responses to two inactivated bovine viral diarrhoea virus (BVDV) vaccines. *Vet J* 2014;199:424-428.

50. Walz PH, Riddell KP, Newcomer BW, Neill JD, Falkenberg SM, Cortese VS, *et al.* Comparison of reproductive protection against bovine viral diarrhoea virus provided by multivalent viral vaccines containing inactivated fractions of bovine viral diarrhoea virus 1 and 2. *Vaccine* 2018;36:3853-3860.