

Leucosis bovina: la batalla final

Suárez Archilla¹, G.; Calvino L¹.; Abdala, A.¹; Camussone, C.¹; Petersen, M.²; Gutiérrez, G.²; Franco, L.²; Vidal, L.²; Destefano, G.²; Alvarez, I.²; Willems, L.³; Trono, K^{2*}.

1- INTA. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Argentina

2- INTA. Instituto de Virología-IVIT. Argentina

3- Willems, L. Universidad de Liege. Bélgica

*trono.karina@inta.gob.ar

RESUMEN

La alta prevalencia de infección con el Virus de la leucosis bovina en los países del continente americano, particularmente Argentina, hacen impracticable las maniobras clásicas de control basadas en eliminación y reposición. Debido a la epidemiología de la leucosis, la clave está en provocar infecciones de bajo nivel de transmisión, tendientes a progresar gradualmente hacia la extinción. Nuestro grupo de trabajo ha iniciado una estrategia basada en el uso de una cepa viral atenuada por modificación genética que ha mostrado ser segura y eficaz. La reciente desregulación para uso en un producto comercial, permite pronosticar su uso próximo futuro con el propósito arriba descripto. En esta presentación se muestra la historia y concreción de resultados desde el inicio de los experimentos en 2008 hasta la actualidad.

SUMMARY

The high prevalence rates with Bovine Leukemia Virus (BLV) in the Americas, eastern Europe and Asia, conditionals in a negative way the application of classical control measures for bovine leukemia control. Taking into account the viral epidemiology, the key for control and eradication, could be the induction of low proviral loads within herds, provoking a gradual progression through infection extinction. Our group has worked with this objective, using an attenuated viral strain. We demonstrated the low replication in vivo, the low transmission potential as well as the protective efficacy against the natural and experimental challenge with the wild type strain present in the field. Recently we obtained the permission of the regulatory authorities (in Argentina) for use of the attenuated strain in a commercial product. This step allowed us to progress to the development of a commercial vaccine that could be used on a routine basis in bovine herds.

Palabras clave: leucosis bovina, profilaxis, cepa atenuada, control.

INTRODUCCIÓN

El Virus de la leucosis bovina o BLV es de alta endemicidad en los países del continente americano, Europa oriental y Asia. La alta prevalencia junto a las condiciones económicas, particularmente en Argentina, hacen impracticable las maniobras clásicas de control basadas en eliminación y reposición. En la mayoría de los casos la infección es asintomática. Sin embargo, se asocia con el riesgo de menor producción de leche, menor longevidad y menor respuesta del sistema inmune. Debido a que no se observan síntomas ni signos evidentes, la infección es dejada de lado en la mayoría de los países afectados, donde no hay estrategias de control o prevención. Las muertes por linfosarcoma, si bien no superan el 10% de las infecciones, son la fuente de pérdida directa, estimada en alrededor de 5000 dólares por vaca muerta. A esto se suman las pérdidas por tratamientos inconducentes, descarte anticipados y la interferencia en el intercambio comercial de material genético. Los intentos previos de generar una herramienta de profilaxis que induzcan protección de largo alcance no han sido exitosos (péptidos sintéticos, virus inactivado, lisados celulares, subunidades, virus vaccinia recombinantes entre otros), debido a la estimulación inadecuada o de corta duración de los componentes de la respuesta inmune. Idealmente, la vacuna óptima debería simular todos los elementos de una infección viral en el hospedador, con el fin de generar una respuesta inmune competente protectora, un desafío complejo para un Retrovirus como el BLV (Rodríguez y col, 2011).

Nuestro modelo ha sido el diseño de una cepa viral atenuada, por modificación del genoma viral, permitiendo una eficiente infección y reacción del sistema inmune, pero un reducido nivel de carga circulante, transmisión y progresión clínica. El concepto es establecer una infección persistente con la cepa atenuada, impidiendo la infección con la cepa de campo. Desde los primeros estudios de variantes genéticas virales en 1993, se ha avanzado en la construcción de una cepa atenuada con

las características teóricas necesarias para generar una vacuna (Gutierrez y col, 2014). En 2008, después de construida dicha cepa atenuada, hemos iniciado el camino de los ensayos para demostrar su eficacia y seguridad en múltiples eventos. Las primeras experiencias demostraron la capacidad infectiva, la baja carga proviral circulante, la falta de transmisión por contacto y a la progenie, así como la ausencia de virus en secreciones lácteas. También demostraron la eficacia de infección con la cepa de campo frente a un alto grado de desafío experimental. El último ensayo realizado a campo en una instalación lechera comercial, permitió demostrar la eficacia y seguridad en 29 hembras vacunadas, convivientes en un rodeo con altos índices de infección. En Septiembre de 2022 y debido a los resultados obtenidos, hemos llegado al hito de desregulación para uso en un producto comercial de la cepa atenuada, lo que abre el camino para progresar hacia el desarrollo productivo de una vacuna disponible para uso en el ganado bovino. In the present study, we evaluated the effectiveness and safety of this candidate vaccine in a productive dairy farm characterized by high rates of BLV prevalence. En este estudio mostramos el camino de la cepa atenuada y los resultados obtenidos, junto con la evidencia de seguridad y capacidad protectora (Suarez Archilla y col., 2022).

Las primeras experiencias demostraron la capacidad infectiva, la baja carga proviral circulante, la falta de transmisión por contacto y a la progenie, así como la ausencia de virus en secreciones lácteas. También demostraron la eficacia de infección con la cepa de campo frente a un alto grado de desafío experimental. El último ensayo realizado a campo en una instalación lechera comercial, permitió demostrar la eficacia y seguridad en 29 hembras vacunadas, convivientes en un rodeo con altos índices de infección. En Septiembre de 2022 y debido a los resultados obtenidos, hemos llegado al hito de desregulación para uso en un producto comercial de la cepa atenuada, lo que abre el camino para progresar hacia el desarrollo productivo de una vacuna disponible para uso en el ganado bovino.

DESARROLLO

Iniciamos la propuesta con la construcción de la cepa atenuada de BLV en colaboración con el grupo de trabajo del Dr. Luc Willems de la Universidad de Liege en Bélgica. La cepa fue construida por modificación de las regiones genómicas identificadas como intervinientes en la replicación viral in vivo y la progresión tumoral. La ruta de la vacuna puede verse en el Figura 1 de forma resumida, donde también se pueden observar los objetivos alcanzados. En la Figura 2 se pueden observar las características de la cepa viral atenuada

De forma resumida, la cepa atenuada ha demostrado ser infectiva, segura y protectora en todos los ensayos realizados. Primero en condiciones de estabulación y aislamiento, y por último en condiciones productivas reales a campo, donde de 29 hembras vacunadas en edad temprana, solamente 1 no estuvo protegida frente al desafío natural durante 4 años de seguimiento. Además de la eficacia protectora, la cepa mostró su reducido nivel replicativo in vivo y la ausencia de transmisión a la progenie. Ninguna de las hembras vacunadas mostró evidencia de progresión clínica. Los ensayos en leche mostraron una drástica reducción en la presencia de provirus. La figura 3 resume los resultados obtenidos en la última experiencia en condiciones productivas reales

CONCLUSIONES

La cepa atenuada tiene características más benignas en relación con la cepa circulante a campo. Esto dio lugar a la desregulación con el consecuente permiso para ser incluida en un producto comercial (<https://www.boletoinoficial.gov.ar/detalleAviso/primera/271894/20220916>). Se muestran en la presentación oral todos los avances



Figura 1. Ruta de la vacuna y objetivos logrados a lo largo de los años

Virus atenuado por modificación genética

- capaz de infectar
- capaz de provocar respuesta inmune protectora
- incapaz de contagiar
- discapacitado para producir tumores
- por biotecnología clásica
- REGULADO por ser OGM

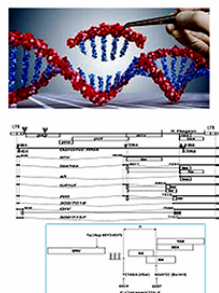


Figura 2. Características de la cepa viral atenuada

obtenidos a través de los años, así como la perspectiva futura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Sabrina M. Rodríguez, Arnaud Florins, Nicolas Gillet, Alix de Brogniez, María Teresa Sánchez-Alcaraz, Mathieu Boxus, Fanny Boulanger, Gerónimo Gutiérrez, Karina Trono, Irene Alvarez, Lucas Vagnoni and Luc Willems. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV. *Viruses* 2011, 3, 1210-1248; doi:10.3390/v3071210

Gerónimo Gutiérrez, Sabrina M. Rodríguez, Alix de Brogniez; Nicolas Gillet, Ramarao Golime, Arsène Burny, Juan-Pablo Jaworski, Irene Alvarez, Lucas Vagnoni, Karina Trono and Luc Willems. Vaccination against γ -Retroviruses: The Bovine Leukemia Virus Paradigm. *Viruses* 2014, 6, 2416-2427; doi:10.3390/v6062416

Guillermo Suárez Archilla, Gerónimo Gutiérrez, Ceci-

lia Camussone, Luis Calvino, Alejandro Abdala, Irene Alvarez, Marcos Petersen, Lautaro Franco, Gabriel Destefano, Gustavo Monti, Jean-Rock Jacques, Thomas Joris, Luc Willems, Karina Trono. A safe and effective vaccine against bovine leukemia virus *Front Immunol* 2022 Aug 10;13:980514. doi: 10.3389/fimmu.2022.980514.

frontiers | Frontiers in Immunology

TYPE Original Research
PUBLISHED 10 August 2022
DOI 10.3389/fimmu.2022.980514

Check for updates

A safe and effective vaccine against bovine leukemia virus

Guillermo Suárez Archilla¹, Gerónimo Gutiérrez², Cecilia Camussone¹, Luis Calvino¹, Alejandro Abdala¹, Irene Alvarez¹, Marcos Petersen², Lautaro Franco², Gabriel Destefano², Gustavo Monti³, Jean-Rock Jacques^{4,5}, Thomas Joris^{4,5}, Luc Willems^{4,6,7} and Karina Trono^{2,8}

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET), Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Bariloche, Argentina, ²Instituto de Virusología e Inmunología Tecnológica, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agropecuarias (INTA-CONICET), Montevideo, Uruguay, ³Quantitative Veterinary Epidemiology Group, Wageningen University and Research, Wageningen, Netherlands, ⁴Molecular and Cellular Epidemiology (MCE) and Molecular Biology (MB), University of Leuven (KU), Leuven, Belgium, ⁵Molecular and Cellular Epidemiology, Interdisciplinary Cluster for Applied Genomics (ICG), University of Leuven (KU), Leuven, Belgium

Previous attempts to develop a vaccine against bovine leukemia virus (BLV) have not been successful because of inadequate or short-lived stimulation of all immunity components. In this study, we designed an approach based on an attenuated BLV provirus by deleting genes dispensable for infectivity but required for efficient replication. The ability of the vaccine to protect from natural BLV infection was investigated in the context of daily productive conditions in an endemic region. The attenuated vaccine was tested in a farm in which the prevalence rose from 16.7% in young cattle at the beginning of the study to more than 90% in adult individuals. Sterilizing immunity was obtained in 28 out of 29 vaccinated heifers over a period of 48 months, demonstrating the effectiveness of the vaccine. As indicated by the antiviral antibody titer, the humoral response was slightly reduced compared to wild-type infection. After initial post-vaccination bursts, the proviral loads of the attenuated vaccine remained most frequently undetectable. During the first daily cycle, proviral DNA was not detected by nested-PCR in milk samples from

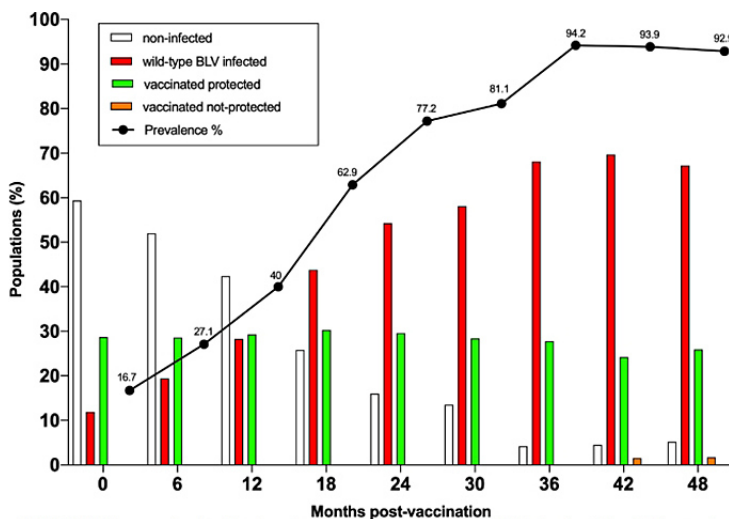


FIGURE 4 The vaccine is effective despite high incidence of BLV infection. The BLV prevalence indicated by the black line was determined at 6 months intervals from birth up to 4 years of age. The percentages of non-infected and BLV-infected animals are indicated by empty and red bars, respectively. In these conditions, vaccinated animals remained protected from wild-type BLV infection (green). Only one out of 29 vaccinated animals became infected with wild-type BLV at 42 months (vaccinated not-protected in orange).

	0	6	12	18	24	30	36	42	48
Prevalencia infección natural (%)	16,7	27,1	40	62,9	77,2	81,1	94,2	93,9	92,9
Nuevos infectados naturales	12	7	9	13	7	4	5	0	0
Convivientes totales	72	70	65	62	57	53	52	49	42
Total vacunadas	29	28	27	27	24	21	20	17	16
Protegidas	29	28	27	27	24	21	20	16	15
TOTAL en ensayo	101	98	92	89	81	74	72	66	58

Tabla 6. Información general sobre el estudio a lo largo del tiempo en todas las cohortes.

Suárez Archilla G, Gutiérrez G, Camussone C, Calvino L, Abdala A, Alvarez I, Petersen M, Franco L, Destefano G, Monti G, Jacques J-R, Joris T, Willems L and Trono K (2022). A safe and effective vaccine against bovine leukemia virus. *Front. Immunol.* 13:980514. doi: 10.3389/fimmu.2022.980514

Figura 3. Resumen de resultados de la experiencia de campo en condiciones productivas reales que dio lugar a la reciente desregulación.