



DINAMICA DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL EN BOVINOS INFECTADOS NATURALMENTE CON HERPESVIRUS BOVINO - 1.1 (BoHV-1.1).

Alonzo PI; Puentes RI; Maisonnave J'

¹.Area de inmunología - Facultad de Veterinaria - Universidad de la República

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la dinámica de la respuesta de anticuerpos anti-BoHV en un grupo de vacas infectadas naturalmente a campo. Se utilizaron 55 vacas y 2 toros que fueron distribuidas al azar en 2 grupos (Grupo A= 28 vacas + toro seronegativo y Grupo B= 27 vacas + toro infectado con BoHV-1.1 al momento de comenzar el servicio). No se detectó circulación viral en las vacas del grupo A. La prevalencia serológica en el grupo B varió durante el experimento con un máximo de animales positivos al día 30 70 % (19/27) y un mínimo al día 147 33 % (9/27). El 55 % (11/20) de las vacas que se infectaron durante el servicio no fueron detectadas por serología a los 5 meses postinfección. Estos bovinos representan un riesgo epidemiológico para el control de la enfermedad ya que no son detectados por los test serológicos utilizados rutinariamente pero son portadores de BoHV-1.1 y potenciales transmisores de la enfermedad.

Introducción

En Uruguay la infección con BoHV se encuentra ampliamente distribuida. Un muestreo aleatorio realizado en la ganadería de carne a nivel nacional encontró que 99.1% de los establecimientos ganaderos posee al menos un animal positivo y la prevalencia serológica fue estimada en 36.6% (Guarino et al. 2008).

La infección natural ocurre por las vías aéreas a través de aerosoles o por contacto directo con secreciones nasales u oculares. BoHV-1 puede ser reactivado y excretado bajo condiciones de estrés natural, transporte, inmunodepresión con corticoides (Engels & Ackermann. 1996). Los anticuerpos específicos normalmente son detectados 7 a 10 días post-infección con un título máximo a los 14 a 21 días (Guy & Potgieter. 1985a). La Seroneutralización (SN) *in vitro* y el ELISA son las técnicas más utilizadas para el diagnóstico serológico (Pidone et al. 1999).

Materiales y Métodos

Animales de experimentación: Se utilizaron 55 vacas Hereford y cruza (> 4 años) y 2 toros Hereford serológicamente negativos a BoHV. Uno de los toros seleccionado al azar fue infectado por vía ocular y nasal con 10^{7.5} Dosis Infectante de Cultivo de Tejido 50 (TCID₅₀) de BoHV-1.1 (cepa Los Angeles) al momento de comenzar el servicio. El restante fue inoculado de la misma manera al comienzo del servicio con 5 mililitros de sobrenadante de cultivo de células sin infectar y utilizado como control. Todas las vacas permanecieron en aislamiento 6 meses previo al servicio y un mes antes del comienzo fueron separadas al azar en 2 grupos (Grupo A= 28 vacas + toro seronegativo y Grupo B= 27 vacas + toro infectado con BoHV-1.1). Cada toro trabajó por 49 días con un grupo de

hembras en un potrero aislado de 33 has. El grupo A se mantuvo hasta el día 150 del experimento y las del grupo B por 11 meses.

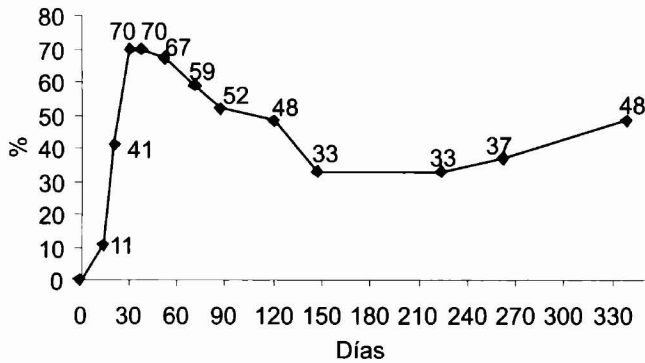
Muestras para serología y aislamiento: La detección de anticuerpos neutralizantes anti-BoHV.1 en las vacas fue utilizada como indicador de infección durante el experimento. Muestras de sangre fueron tomadas en el grupo A los días 0, 14, 30, 49, 61, 90, 120 y 150, en el grupo C días 0, 14, 21, 30, 38, 52, 71, 87, 120, 147, 224, 262 y 338 y en los toros los días 0, 7, 14, 21, 30, 38 y 50. Hisopos ocular, nasal, prepucial y líquido seminal fueron obtenidos de los dos toros los días 0, 2, 4, 7, 14, 21, 25, 30, 38 y 49.

Serología: La técnica de SN *in vitro* fue utilizada para determinar anticuerpos neutralizantes anti-BoHV según fue descrito por House & Baker (1971) y el título de anticuerpos (Título SN) se calculó por el método de punto final 50. Las muestras de suero de las vacas del grupo B con resultado negativo a la SN *in vitro* fueron evaluadas también utilizando un Kit comercial de ELISA (Civtest-Laboratorio Hipra). Aislamiento viral: Se utilizó protocolo descrito en Manual de Standards para Test Diagnósticos y Vacunas (2000).

Resultados

Al inicio del experimento (día 0) todos los bovinos utilizados resultaron negativos para la detección de anticuerpos anti-BoHV. No se detectaron anticuerpos anti-BoHV en ninguna de las vacas ni en el toro del grupo A (control) durante todo el experimento. En el toro del grupo B anticuerpos anti-BoHV fueron detectados al día 9 postinfección con un pico al día 20. BoHV-1 fue aislado de hisopados ocular del día 2 al 30, nasal del día 2 al 7, prepucial del día 4 al 7 y de líquido seminal solo al día 7 postinfección. No se aisló BoHV-1 en las muestras del toro del grupo A.

A los 30 días de comenzar el servicio anticuerpos anti-BoHV fueron detectados en el 74 % (20/27) de las vacas del grupo B. El restante 26 % (7/27) permaneció seronegativa hasta el final del estudio. El rango en el que oscilaron los títulos de anticuerpos neutralizantes fue de 2 a 64. La prevalencia serológica en el grupo B varió durante el experimento con un máximo de animales positivos al día 30 y 38 70 % (19/27) y un mínimo al día 147 y 224 33 % (9/27). En una de las vacas anticuerpos neutralizantes fueron detectados únicamente al día 30 del experimento. La dinámica de la prevalencia serológica en el grupo B durante 11 meses se muestra en el gráfico 1. Todas las muestras de vacas infectadas con BoHV-1.1 que en determinado momento del experimento se hicieron serológicamente negativas por la técnica de SN *in vitro* fueron procesadas también por el test de ELISA con resultado negativo.



Gráfica 1. Dinámica de la prevalencia serológica para BoHV en el grupo B (%).

Durante los 11 meses en los que las vacas del grupo B permanecieron en aislamiento y sin contacto con otros bovinos se produjeron 2 picos en el promedio de anticuerpos anti-BoHV, el primero al día 21 ($X=9.3$) y el segundo al día 147 ($X=17.3$). La MG del título de anticuerpos neutralizantes marca un pico principal a los 21 días (MG = 7.1) y a partir del día 30 el valor se mantiene y oscila entre 5.8 y 4.5.

Conclusiones

La existencia de bovinos serologicamente negativos e infectados latentemente es un hallazgo ya reportado (Alonzo et al. 2002, Alonzo et al. 2004). Este fenómeno fue asociado en primera instancia a un problema individual. Sin embargo, el presente estudio demuestra que es un hallazgo común y que debe ser considerado en la epidemiología de la enfermedad.

Un aumento de cuatro diluciones en el título de anticuerpos neutralizantes fue detectado en dos vacas al día 87 y 147 del experimento evidenciando una posible reactivación viral. Esto influyó para que se produjera un pico en el promedio del título de anticuerpos al día 147 ($X=17.3$).

El 55% (11/20) de las vacas que se infectaron durante el servicio no son detectadas por los test serológicos 5 meses postinfección. La latencia viral no fue comprobada en estos bovinos. Sin embargo, está ampliamente documentado en la bibliografía que BoHV-1 induce latencia (animales asintomáticos latentemente infectados) postinfección y que estos animales aparentemente sanos son capaces de reexcretar el virus y transmitirlo (Engels & Ackermann. 1996). Por lo tanto, es altamente probable que las vacas a las cuales no se les detectan anticuerpos anti-BoHV postinfección puedan eliminar y transmitir el virus constituyendo un importante riesgo epidemiológico para el control de la enfermedad.

Summary

The aim of this study was to evaluate the dynamic response of anti-BoHV in a group of cows naturally infected. We used 55 cows and 2 bulls were divided randomly into 2 groups (Group A = 28 seronegative cows + bull and Group B = 27 cows + bull infected with BoHV-1.1 when you start the service). No viral circulation was detected in cows of group A. The serological prevalence in group B varied during the experiment with a maximum of 30 positive animals at 38 day to 70% (19/27) and a minimum of 147 day and 224 33% (9/27). 55% (11/20) of cows were infected during the service were not detected by serology at the post-5 months. These animals represent an epidemiological risk for disease control and which are not detected by serological tests used routinely but are carriers of BoHV-1.1 and potential transmitters of the disease.

Bibliografía

- Alonzo P, Benavides U, Isnardi F, Puentes R, Carol H, Clavijo A, Del Campo R, Bonnevaux J, Weiblen R, Fondevila N, Romera S, Sadir A, Maisonnave J. (2002). Caracterización de un herpesvirus-1.1 (HVB-1.1) aislado de un bovino con signos nerviosos y sin respuesta inmune humoral específica. *Veterinaria (Mdeo)* 37:15-22.
- Alonzo P, Benavidez U, Isnardi F, Puentes R, Maisonnave J. (2004). Lack of specific immune response after BHV infection. In: Collection of Free Papers presented at the 12th Int. Congress of Immunology and 4th annual Conference of FOCIS (Montreal-Canada), Ed. Medimond, Immunology 2004, Bologna, pp. 161-164.
- Engels M, Ackermann M. (1996). Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet Microbiol* 53:3-15.
- Guarino H, Núñez A, Repiso MV, Gil A, Dargatz DA. (2008). Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. *Prev Vet Med* 85:34-40.
- Guy JS & Potgieter LND. (1985). Bovine herpesvirus-1 infection of cattle: Kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. *Am J Vet Res* 46:893-898.
- House JA & Baker JA. (1971). Bovine herpesvirus IBR/IPV. The antibody virus neutralization reaction. *Comell Vet* 61:320-335.
- Manual de Standards para Test Diagnósticos y Vacunas (2000). Elaborado por la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), Cuarta edición, capítulo 2.3.5:1381-1439.
- Pidone CL, Galosi CM, Etcheverrigaray ME. (1999). Herpesvirus bovinos 1 y 5. *Analecta Veterinaria* 19-1/2 :40-50.