

Diarrea Viral Bovina

Parte II. Una nueva herramienta para el control

Por Demian Bellido ⁽¹⁾, Josefina Bazarrica ⁽¹⁾, Viviana Parreño ⁽²⁾ y Andrés Wigdorovitz ⁽³⁾.

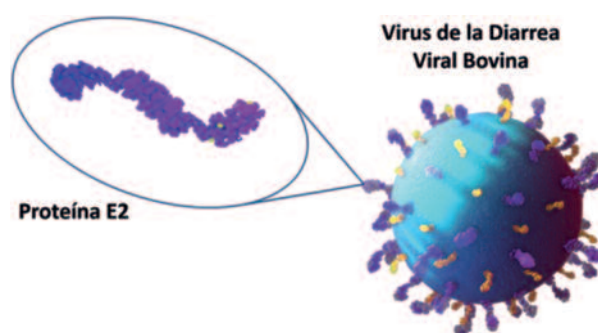
El Virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) causa importantes pérdidas económicas en nuestro país. Está asociado a una variedad de cuadros clínicos que ocasionan problemas respiratorios, reproductivos, gastrointestinales y que pueden llegar incluso a la muerte del animal. Como se describió en la primera parte de esta nota, el control de este virus es posible con un plan sanitario basado en tres pilares: 1) la vacunación de los animales susceptibles; 2) la eliminación de los animales persistentemente infectados; y 3) medidas de bioseguridad que eviten que el virus ingrese al rodeo.

En esta segunda parte, presentamos el desarrollo de una vacuna totalmente innovadora indicada para el control del vDVB, que fue lanzada recientemente al mercado por Bioinnovo y el laboratorio Vetanco SA. Hasta ahora la totalidad de las vacunas contra el vDVB disponibles eran vacunas tradicionales, a virus entero inactivado. vedevax BLOCK es la primera vacuna de nueva generación disponible en el mercado nacional contra esta enfermedad. Posee, a su vez, ciertas características que la hacen única a nivel mundial: *es una vacuna a Subunidad Direccionada*.

Vacunas a Subunidad

Las vacunas a subunidad son aquellas en las que no está presente el microorganismo completo, sino solo una fracción del mismo. En este caso, para la formulación de vedevax BLOCK se utiliza la proteína E2 del vDVB, que es una proteína de la cápside externa del virus, que tiene una gran importancia en la replicación viral ya que se une a los receptores celulares y media la entrada del virus a las células. Además, en su estructura, se encuentran sitios antigénicos que son capaces de inducir una respuesta inmune protectora (Figura 1) ^(2,5).

Figura 1. Imagen esquemática del Virus de la Diarrea Viral Bovina, donde se encuentra ampliada la proteína E2.



Una de las características que tienen en común todas las vacunas a subunidad es la ausencia de material genético: no hay ADN ni ARN del microorganismo en la formulación. Esto es muy importante, ya que las hace totalmente seguras, no hay riesgo de falla de inactivación, reversión a la virulencia o recombinación con cepas de campo. Las vacunas a subunidad tienen, a su vez, una serie de ventajas. Entre las principales podemos destacar que son estables, seguras y permiten diferenciar animales vacunados de animales infectados, por lo que se las conoce como vacunas marcadoras o vacunas con capacidad DIVA por sus siglas en inglés (*Differentiation of Infected from Vaccinated Animals*) ⁽¹⁵⁾.

Por otro lado, las vacunas a subunidad también han presentado a lo largo de los años una serie de desventajas históricas y la que podemos destacar como principal es la baja inmunogenicidad relativa. Esto se debe, en parte, a su pequeño tamaño, como quedó demostrado en las experiencias realizadas por el Dr Nieba ⁽⁷⁾. En ellas se inmunizaron ratones con una proteína viral que puede formar estructuras más o menos complejas de acuerdo a las condiciones del medio. La proteína puede estar

(1) Vetanco SA.

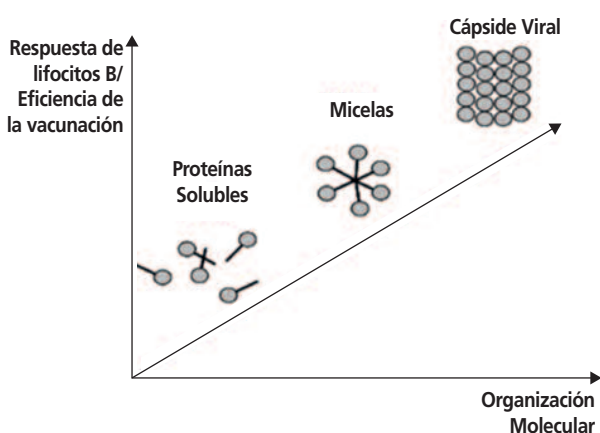
(2) Incuinta, CICV y AIIna.

(3) Bioinnovo SA.

en forma de proteína soluble, micelas o formar la cápside entera del virus. Inocularon ratones con la misma masa de proteína en cada uno de los tres estados y lo que observaron fue que a medida en que aumentaba el nivel de organización y el tamaño, aumentaba también la respuesta inmune generada (Figura 2).

Figura 2. Relación estructura-inmunogenicidad. Asociación entre el grado de organización de la proteína VSV-G y la respuesta inmune humoral inducida.

Muestra 1: Proteína Soluble; **Muestra 2:** Micelas; **Muestra 3:** Cápside Viral. Modificado de Nieba, L. y col., (2000) (7).



Esto se debe principalmente a la forma en que ha evolucionado el sistema inmune. Antigüamente se creía que el sistema inmune estaba preparado para diferenciar lo propio de lo no propio, sin embargo, estudios más recientes han demostrado que el sistema inmune ha evolucionado para reconocer lo peligroso de lo no peligroso (6). Es por esto que el sistema inmune responde de una manera más eficiente cuando encuentra estructuras más complejas -que normalmente están relacionadas con patógenos- que frente a pequeñas proteínas solubles (7).

La subpoblación de glóbulos blancos que se encarga de reconocer los antígenos circulantes y dar comienzo a la respuesta inmune específica son las células presentadoras de antígenos (CPA). Hay distintas células que tienen función presentadora, como los monocitos, los macrófagos y los linfocitos B, pero cuando se habla de CPA, se refiere sobre todo a las células dendríticas (Figura 3).

Las células dendríticas, son células muy interesantes, ya que son las principales CPA y tienen la capacidad de captar antígenos foráneos, procesarlos (esto es digerirlos y “romperlos” en pedacitos más chicos) y presentar estos antígenos procesados a los linfocitos T y B para activarlos y de esta manera dar comienzo a la respuesta inmune




LÍNEA REPRODUCTIVA CALIER

Pluselar 1,2 Dispositivos intavaginales con progesterona

Pluselar 0,6 Dispositivos intavaginales con progesterona

Pluset FSH - LH

Veteglan d-cloprestenol

Vetegon eCG
Gonadotropina Coriónica equina

Benzoato de estradiol

Cipionato de estradiol

Pluserelina
Buserelina acetato



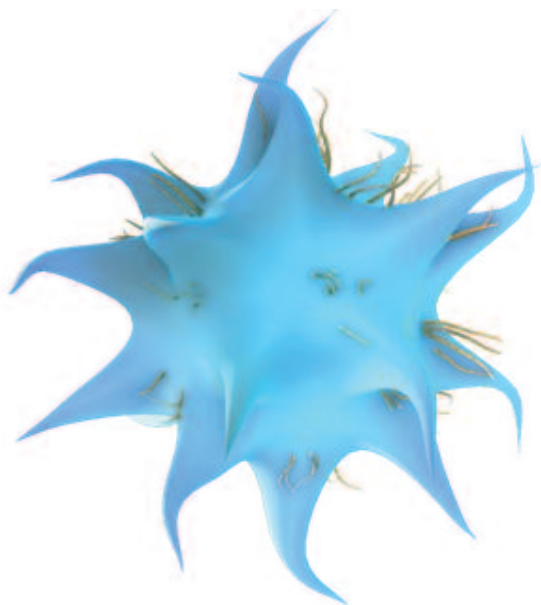
ENTERATE MÁS, SEGUINOS EN LAS REDES.

CONTACTANOS: (011) 45826740/8668/3697
WWW.CALIER.COM.AR - WWW.CALIER.NET



específica⁽¹²⁾. Es por esto que se suele caracterizar a las células dendríticas como la unión entre la respuesta inmune innata y la específica⁽⁴⁾.

Figura 3. Representación esquemática de una célula dendrítica. Se pueden observar las prolongaciones características en forma de dedo de donde deriva su nombre. En verde se representan las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad de Clase II.



En los últimos años, estas células han despertado gran interés entre los inmunólogos de todo el mundo, debido a que la interacción célula dendrítica-linfocito es determinante para el desarrollo posterior de la respuesta inmune. Es por esto que se dice que las células dendríticas son como los directores de orquesta de la respuesta inmune⁽¹³⁾.

La pregunta que surgió en este punto fue: ¿cómo podemos hacer una vacuna a subunidad aprovechando todas las ventajas que presentan pero que, a su vez, sea capaz de activar de manera eficiente al sistema inmune? La respuesta fue el direccionamiento de la proteína E2.

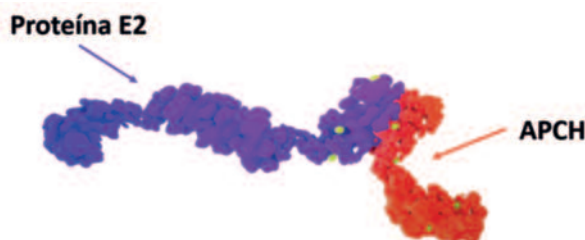
Vacuna Direccionada

La siguiente característica que hace a vedevax BLOCK una vacuna única en el mundo es que se trata de una vacuna direccionada. El direccionamiento antigénico es una herramienta mediante la cual un antígeno, en este caso de la proteína E2 del vDVB, es dirigido hacia algún blanco o punto estratégico, con la misión de incrementar la duración e intensidad de la respuesta inmune inducida.

Como mencionamos previamente, las células presentadoras de antígeno en general, y las células dendríticas en particular, están en el centro mismo de la respuesta inmune y fueron el blanco

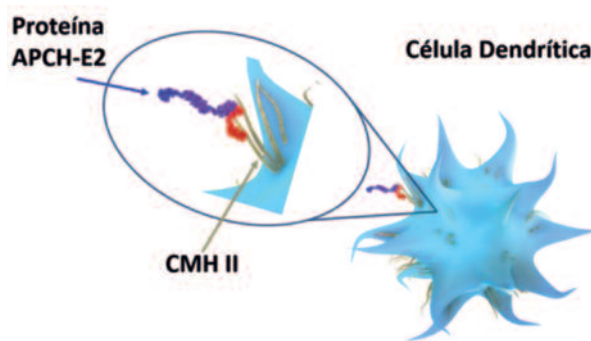
elegido para direccionar la nueva vacuna. El direccionamiento se logró mediante la fusión de la proteína E2 con la molécula direccionadora APCH para formar una única proteína, como se puede apreciar en la Figura 4.

Figura 4. Estructura tridimensional de la proteína direccionada APCH E2. Esta proteína es la base de vedevax BLOCK



La molécula APCH es un anticuerpo de simple cadena que tiene la capacidad de unirse al Complejo Mayor de Histocompatibilidad de Clase II (CMH II). Como el CMH II solo se expresa en las células presentadoras de antígeno del sistema inmune, la proteína E2 al estar unida al APCH es dirigida directamente a estas células, como se puede observar en la Figura 5^(3,11).

Figura 5. Interacción de la proteína APCH-E2 con las células dendríticas. La interacción se produce por la unión de la molécula APCH al Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase II (MHC II) presente en la superficie de las células dendríticas.



Mediante esta estrategia se logró generar una vacuna que cuenta con todas las ventajas de las vacunas a subunidad, pero que a su vez es capaz de activar de manera muy eficiente al sistema inmune, capaz de generar una respuesta de anticuerpos neutralizantes muy potente y de larga duración en el animal vacunado, consiguiendo evitar la principal desventaja que han presentado históricamente las vacunas a subunidad⁽¹⁰⁾.

Con el objetivo de evaluar la performance de la vacuna se realizó una experiencia en bovinos adultos, como se describe a continuación.

Diseño experimental

Se realizó una evaluación en condiciones de campo de la nueva vacuna. Para ello se trabajó con 18 animales adultos de raza Angus. Los animales se dividieron aleatoriamente en tres grupos antes de dar comienzo a la prueba: 6 animales fueron vacunados con vedevax BLOCK, 6 animales se inocularon con una vacuna de referencia de SENASA y 6 Testigos que fueron inyectados con solución salina. La experiencia se realizó en las instalaciones del INTA de Castelar, que es un campo libre de vDVB. Se realizaron dos inmunizaciones en los días 0 y 30, por vía subcutánea en la tabla del cuello.

Materiales y Métodos

Las muestras fueron remitidas al Instituto de Virología del INTA de Castelar para su análisis. Los sueros se analizaron por Virus Neutralización. Análisis estadístico: Test de Anova de medidas repetidas en el tiempo.

Resultados

En el Figura 6 se presenta la cinética de respuesta de anticuerpos de los tres grupos en estudio evaluada por neutralización viral.

Como se puede observar en la Figura 6, los animales del Grupo vedevax BLOCK respondieron de manera muy eficiente a la vacunación, alcanzando títulos de anticuerpos neutralizantes

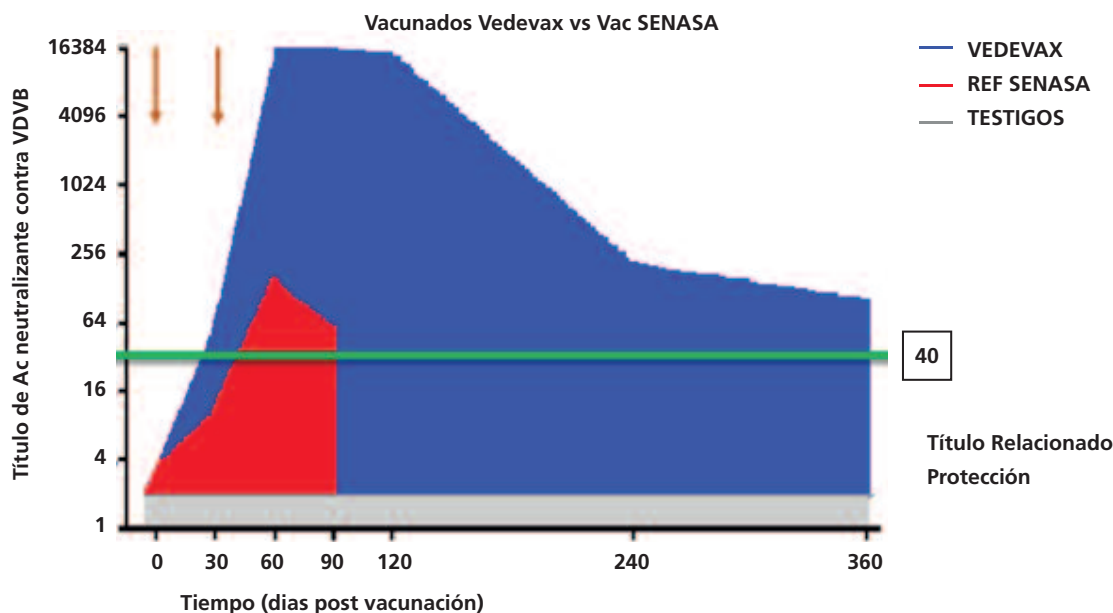
de más de 16000. Por su parte los animales vacunados con la vacuna de referencia de SENASA, que es una vacuna clásica a virus inactivado, alcanzaron títulos de 100. Los animales del grupo Testigos que recibieron solución salina, se mantuvieron negativos durante toda la experiencia, por lo que podemos asegurar que no hubo circulación viral durante el período que duró la prueba. Tradicionalmente los títulos neutralizantes se expresan en valores logarítmicos, si utilizáramos esa escala, 16000 que es el valor promedio máximo de los animales inoculados con vedevax BLOCK sería 4,2, mientras que 100, que fue el máximo valor máximo alcanzado por la vacuna de referencia de SENASA, sería 2.

A su vez, se puede observar que los animales del grupo vedevax BLOCK presentaron títulos que correlacionan con protección (títulos neutralizantes mayores a 2) durante todo el año con solo dos inmunizaciones, mientras que el grupo que recibió la vacuna tradicional los títulos comenzaron a decaer a partir del día 90⁽¹⁾.

Análisis y Discusión

El desarrollo de vedevax BLOCK constituye un hito en la historia de la vacunología veterinaria a nivel mundial, ya que es la primera vacuna direccionada disponible para uso en bovinos. Esta vacuna está indicada para la lucha contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina, un virus que

Figura 6. Cinética de respuesta de anticuerpos analizados por Virus Neutralización. Azul: vedevax BLOCK. Rojo: Vacuna Referencia de SENASA; Gris: Testigos. Las flechas indican los momentos de vacunación, días 0 y 30. El Título Neutralizante se expresa como la máxima dilución a la que una muestra es considerada positiva. La línea verde indica el título relacionado con protección (1) "*" indica diferencias significativas ($P < 0,01$).





BIOINNOVO

TERNEROS

El primer producto **Biológico** aprobado para la prevención y control de las diarreas neonatales del ternero



**UN BUEN
CALOSTRADO**

+

**BIOINNOVO
TERNEROS**

UNA GUACHERA SANA

Cada 5 baldes de 6 kg de Bioinnovo Terneros, 1 refractómetro óptico Alla France de regalo ó cada 30 baldes de 1 kg de Bioinnovo Terneros, 1 refractómetro óptico Alla France de regalo.
Promoción válida hasta agotar stock de refractómetros

**PRODUCTOS
SEGUROS PARA
ALIMENTOS SEGUROS**

WWW.VETANCO.COM

www.facebook.com/vetancook





vedevax
 **BLOCK**



Creamos **HOY**
la sanidad del **MAÑANA**

Primera vacuna a Subunidad
Direccionada del mundo
para la Diarrea Viral Bovina



BIOINNOVO



causa pérdidas económicas por más de 100 millones de dólares por año solo en nuestro país⁽⁸⁾.

Como hemos visto, se trata de una vacuna totalmente novedosa, con una tecnología completamente distinta a la que utilizan las vacunas tradicionales disponibles en el mercado. Es una vacuna diseñada racionalmente para interactuar con el sistema inmune en un momento clave de la respuesta inmune, como es la presentación antigénica. Gracias a esta interacción y a la activación de las células presentadoras de antígenos, es capaz de inducir una respuesta inmune muy potente, que se refleja en la gran intensidad y duración de los anticuerpos neutralizantes que se generan a partir de la vacunación.

El hecho de ser una vacuna a subunidad direccionada, racionalmente diseñada, impacta directamente en su capacidad para inducir protección frente al vDVB. Se ha reportado que los animales con títulos de anticuerpos neutralizantes mayores a 40, se encuentran protegidos contra este virus⁽¹⁾. Con vedevax BLOCK, todos los animales en estudio, presentaron títulos de anticuerpos neutralizantes mayores a este valor, a partir de la primera inoculación y por los doce meses que duró la experiencia. Este efecto no se observó con la vacuna tradicional, donde la respuesta inmune fue mucho menor, tanto en intensidad como en duración. Los doce meses de protección que confiere la vacunación permiten evitar maniobras y encierros, ya que es posible utilizar un plan de vacunación en los que se apliquen dos dosis en la primo-vacunación y luego un solo refuerzo anual.

Por todo lo expuesto, consideramos que vedevax BLOCK constituye una herramienta fundamental para luchar contra este virus que es responsable de pérdidas muy importantes para a la industria ganadera nacional.

Agradecimientos:

- Instituto de Virología CICV y A INTA, donde se realizó la investigación que dio origen a este producto.

- Algenex SA, con quien se desarrolló la molécula APCH y que dio origen a la patente.

- Hobby Studio Creativo y Diego Rozek, por las imágenes.

Bibliografía

1. Bolin, S.R. and J. F. Ridpath, "Glycoprotein E2 of bovine viral diarrhoea virus expressed in insect cells provides calves limited protection from systemic infection and disease.," *Arch. Virol.*, vol. 141, no. 8, pp. 1463–77, 1996.

2. Donis, R.O., W. Corapi, and E. J. Dubovi, "Neutralizing Monoclonal Antibodies to Bovine Viral Diarrhoea Virus Bind to the 56K to 58K Glycoprotein," *J. Gen. Virol.*, vol. 69, no. 1, pp. 77–86, Jan. 1988.
3. Gil, F. et al., "Targeting antigens to an invariant epitope of the MHC Class II DR molecule potentiates the immune response to subunit vaccines," *Virus Res.*, vol. 155, no. 1, pp. 55–60, Jan. 2011.
4. Klechevsky, E. "Functional Diversity of Human Dendritic Cells.," *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 850, pp. 43–54, 2015.
5. Liang, D. "The envelope glycoprotein E2 is a determinant of cell culture tropism in ruminant pestiviruses," *J. Gen. Virol.*, vol. 84, no. 5, pp. 1269–1274, May 2003.
6. Matzinger, P. "Tolerance, danger, and the extended family.," *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 12, pp. 991–1045, 1994.
7. Nieba, L. and M. F. Bachman, "A New Generation of Vaccines," *Mod. Asp. Immunobiol.*, vol. 1, no. 2, p. 1:36, 2000.
8. Odeon, A. "Control d virus de la Diarrea Viral Bovina" Balcarce, Buenos Aires, 2016.
9. Paton, D.J., J. J. Sands, J. P. Lowings, J. E. Smith, G. Iyata, and S. Edwards, "A proposed division of the pestivirus genus using monoclonal antibodies, supported by cross-neutralisation assays and genetic sequencing.," *Vet. Res.*, vol. 26, no. 2, pp. 92–109, 1995.
10. Pecora, A. et al., "Development of an APC-targeted multivalent E2-based vaccine against Bovine Viral Diarrhoea Virus types 1 and 2," *Vaccine*, vol. 33, no. 39, pp. 5163–5171, Sep. 2015.
11. Pecora, A. et al., "Safety and efficacy of an E2 glycoprotein subunit vaccine produced in mammalian cells to prevent experimental infection with bovine viral diarrhoea virus in cattle.," *Vet. Res. Commun.*, vol. 36, no. 3, pp. 157–64, 2012.
12. Schraml, B.U. and C. Reis e Sousa, "Defining dendritic cells.," *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 32, pp. 13–20, Feb. 2015.
13. Van Rijn, P.A. et al., "Subdivision of the pestivirus genus based on envelope glycoprotein E2.," *Virology*, vol. 237, no. 2, pp. 337–48, Oct. 1997.
14. Vena, M.M. "Conceptos sobre Vacunología de bovinos", 2016.
15. Wigdorovitz, A., M. J. Dus Santos, M. V. Mozgovoij, and D. Bellido, "Vacunas convencionales y nuevas tecnologías para el desarrollo de inmunógenos" in *La vacunación en la prevención, el control y la erradicación de las enfermedades infecciosas de los animales*, Fundación, A. A. Schudel, Ed. Buenos Aires, 2017, p. 516.

La línea más completa
para IATF



LÍNEA REPRODUCTIVA



Benzoato de Estradiol VF

Cipionato de Estradiol VF

Dextrogenol D-Cloprostenol



Fatro Von Franken

Gral. Lavalle 2247/49 - (1602) Florida - Pcia. de Bs. As. - Rep. Argentina

Tel. 4797-5544 (L. Rotativas) - Fax (54-11)4797-8257 - consultas@fatrovonfranken.com.ar - www.fatrovonfranken.com.ar