



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

Facultad de Ciencias Veterinarias

Corrientes – Argentina

**TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN
MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA**

OPCIÓN: PRODUCCIÓN ANIMAL.

TEMA: EVALUACIÓN SEROLÓGICA DEL COMPORTAMIENTO DE UN INMUNOGENO DE DVB EN UN GRUPO DE VACAS Y VAQUILLAS VERSUS UN GRUPO DE LAS MISMAS CONDICIONES NO VACUNADOS.

TUTOR EXTERNO: ACOSTA ROMERO, MARIO LUIS.

TUTOR INTERNO: ESPASANDIN, ANA GABRIELA.

RESIDENTE: OJEDA, JUAN PABLO.

2020

INDICE

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	9
Materiales y métodos.....	10
Resultados.....	11
Conclusiones.....	14
Bibliografía.....	16
Anexos.....	18

RESUMEN

El Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) pertenece al género *Pestivirus*, dentro de la familia *Flaviviridae*. El VDVB se encuentra mundialmente distribuido y genera problemas que impactan económicamente en las industrias ganaderas y de productos biológicos. El objetivo de este trabajo es evaluar el uso de una vacuna contra VDVB, midiéndola por medio de la cantidad de terneros logrados al final de la gestación, tratando de obtener la máxima cantidad de éstos, además de medir serológicamente los títulos de anticuerpos. El trabajo se llevó a cabo en una estancia ubicada en la localidad de Mercedes, Corrientes. Se realizó una recopilación de datos desde el 12 de abril hasta el 20 de septiembre de 2018. Los animales que comprendieron el estudio fueron un total de 32 vacas y 60 vaquillas, las mismas se dividieron en un grupo “Tratado” y un grupo “Control”. Las tomas de muestras de sangre para serología se realizaron en cuatro oportunidades en ambos grupos. Hacia el final del ensayo una vaquilla del grupo Tratado no presento cría, se realizó el diagnóstico del “síndrome de vaca vacía”, dando negativo a todos los agentes, posteriormente se efectuó un análisis de Elisa de Antígeno, resultando positivo a PI. Se obtuvo sólo un 1.09% de merma preñez-parición, los niveles de respuesta de la vacuna probada mostraron valores más que satisfactorios, incrementando la inmunidad tanto en vacas como en vaquillas. Quedando en evidencia la diferencia de cobertura inmunológica de un animal vacunado de otro no vacunado. Remarcando la importancia de lograr una inmunogenicidad adecuada, con el uso de las vacunas monovalentes principalmente en aquellas enfermedades altamente complejas de controlar y más aun de erradicar del rodeo, generando porcentajes de mermas muy altos en los rodeos no controlados.

INTRODUCCIÓN

El Virus de la diarrea viral bovina (BVDV) pertenece al género *Pestivirus*, dentro de la familia *Flaviviridae*. El BVDV se encuentra mundialmente distribuido y genera problemas que impactan económicamente en las industrias ganaderas y de productos biológicos. La infección con BVDV resulta en un amplio rango de manifestaciones, que van desde una enfermedad respiratoria o gastroentérica leve a síndromes hemorrágicos y enfermedad de las mucosas, dependiendo de la virulencia del virus y del estado inmunológico y reproductivo del animal (Pecora, 2014).

El progreso de la infección por BVDV depende tanto de factores relacionados con el hospedador como de la cepa viral infectante. La consecuencia de una infección con BVDV depende principalmente de que el animal infectado esté preñado o no y si ha sido previamente infectado con el virus. Generalmente, la infección de bovinos inmunocompetentes puede inducir inmunidad de por vida y cierto grado de protección fetal durante futuras preñeces, dependiendo del genotipo viral al que se exponga en el futuro (Fredriksen y col., 1999).

El BVDV es responsable de una gama importante de efectos, como fallos reproductivos, defectos congénitos, animales persistentemente infectados (PI), complejo respiratorio bovino y la enfermedad de las mucosas (Baker, 1990). Se transmite horizontalmente en forma directa por contacto con flujo vaginal, orina y heces, el contacto nariz con nariz es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. La transmisión también puede ocurrir a través de semen de toros infectados en forma aguda o toros PI (Baker, 1995).

La infección aguda con el virus produce un cuadro de inmunodeficiencia, lo cual favorece la infección de otros agentes patogénicos, como el Parainfluenza tipo 3, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Coronavirus, Rotavirus, *Pasteurella sp*, *Salmonella sp*, entre otros, responsables del complejo respiratorio bovino.

La transmisión vertical puede ocurrir en cualquier momento de la gestación, el virus atraviesa la placenta e infecta el feto, causando infertilidad transitoria, abortos, malformaciones congénitas o nacimiento de animales PI. Estos últimos son el resultado de la infección del feto dentro de los primeros 120 días de gestación con una cepa no citopática (NCP) período donde el sistema inmune aún no se ha desarrollado y los animales nacen inmunotolerantes al virus (Vanroose y col., 1998).

Los animales PI pueden ser más pequeños que los terneros normales, pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más del 50 %), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen, siendo la forma más eficiente de prevalencia del virus en el rodeo, ya que las hembras persistentemente infectadas siempre dan origen a terneros PI. A las hembras preñadas que sufren infección con BVDV NCP entre los 30 y 120 días de gestación y por ende están gestando crías PI, se las conoce como “troyanas”, ya que presentan anticuerpos contra el BVDV pareciendo estar inmunizadas, cuando en realidad esos anticuerpos son fruto de exposición constante al agente proveniente del feto. (Lanyon y col., 2014).

En la década del 1980, se demostró que solo los animales PI pueden desarrollar la Enfermedad de las Mucosas luego de una superinfección con una cepa citopática (CP) homóloga. Sin embargo, la enfermedad de las mucosas también puede surgir por la generación de novo de una mutante CP a partir de la NCP infectante (Bolin y col., 1985). Esta enfermedad se presenta, generalmente, de forma aguda con un 100% de mortalidad entre los 6 y 18 meses. Esta se desarrolla cuando el virus CP infectante comparte homología con el virus NCP persistente infectante, de manera que el sistema inmune del animal PI no reconoce al virus CP como extraño y su sistema inmune no reacciona ante éste. En el otro extremo del espectro tenemos una enfermedad sin manifestación clínica, pero con seroconversión (Pecora, 2014).

La enfermedad de las mucosas se manifiesta con síntomas desde pirexia, debilidad, anorexia, aumento del ritmo respiratorio y cardíaco, hasta lesiones en la cavidad oral, nasal y diarrea profusa con restos intestinales (Pecora, 2014).

El diagnóstico clínico se sustenta en una prolija anamnesis, observación de manifestaciones clínicas y resultados de la necropsia. Para el diagnóstico de laboratorio se puede remitir muestras de diferentes tejidos (Placas de Peyer, Íleon, Bazo, Timo, Pulmón o Hígado, entre otros), materia fecal y productos del aborto para aislamiento viral. También se utilizan las técnicas inmunodiagnósticas como la Inmunofluorescencia directa (IF) o el Enzimoimmuno ensayo (ELISA), consideradas de rutina. La serología tiene valor diagnóstico cuando se la practica en forma pareada para determinar seroconversión. Para considerar positiva la prueba, en el segundo diagnóstico los resultados deben incrementarse al menos cuatro veces con respecto al resultado de la primera (Jacobo, 2007).

Para la identificación de los animales virémicos persistentes, que son seronegativos, se debe recurrir siempre a distintos métodos de diagnóstico de laboratorio, como ser:

- **Detección del antígeno viral:** ELISA de antígeno. Estos análisis se basan en la detección de proteínas conservadas del virus. Existen kits comerciales importados que utilizan muestras de suero, sangre entera o leucocitos y en los cuales se siembran en placas las muestras individuales de cada animal que se quiera evaluar. El procedimiento lleva 2 o 3 horas.
- **Aislamiento Viral.** Para realizar el aislamiento viral, se requiere mano de obra calificada para trabajar con células, equipamiento y disponibilidad de cultivos celulares. El procedimiento lleva como mínimo tres semanas de trabajo debido a la necesidad de realizar múltiples pasajes en líneas celulares susceptibles al VDVB, que de esta manera se aumenta la concentración del virus. El último paso implica el 15 revelado a través de la detección del antígeno viral en las células infectadas marcados con fluorocromos (inmunofluorescencia) o bien por PCR.
- **Detección de genoma viral:** detectan material genético del VDVB. Esto requiere 1-2 días de trabajo. Por otro lado, está la PCR en tiempo real, el resultado se obtiene directamente a través del software asociado al equipo utilizado. Se puede trabajar con muestras de suero, sangre entera o leucocitos (Pecora y col., 2017).

Con respecto al manejo sanitario, como en todas las enfermedades infecciosas, lo ideal es mantener separadas las distintas categorías del rodeo, (terneros, vaquillas y vacas), de manera preventiva sería una buena opción eliminar terneros con poco desarrollo ya que puede ser un posible PI. Se debe tener cuidado con los animales traídos de otro establecimiento, manteniendo éste grupo junto en un potrero sin mezclarlos con el resto del rodeo por un tiempo determinado. No juntar al ingreso de animales nuevos con los del establecimiento, manteniéndolos separados y en observación por 30 días. En caso de abortos, realizar el diagnóstico serológico 30 días después de ocurrido el trastorno, y repetir 15 días después para asegurarnos de poder captar una posible seroconversión. Se recomienda administrar la vacuna preservicio en conjunto con las demás vacunas reproductivas y reforzar al tacto, a las que mantienen la gestación. En animales con diagnóstico temprano, apartarlos del resto de rodeo llevándolo a un piquete o potrero de curación, en el que se pueda hacer un mejor seguimiento administrando antibióticos para controlar la asociación bacteriana. En feed lot se debe vacunar al ingreso, manteniendo

también apartado con su grupo de llegada hasta la cuarentena y luego clasificar y armar grupos por peso y edades similares. Es imprescindible mantener la higiene de comederos y bebederos (Jacobo, 2007).

El BVDV es de distribución mundial, la prevalencia del virus dentro de los rodeos, depende mucho de la presencia o no de un animal PI. En la mayoría de los estudios de genotipificación de aislamientos publicados hasta el momento, el BVDV 1 fue más frecuente que el BVDV 2. En Argentina, los datos reportados a partir de un relevamiento serológico realizado en tres regiones del país (Buenos Aires, La Rioja y Corrientes), revelaron una alta prevalencia (48,6% - 90,7%) de anticuerpos a BVDV 1a en bovinos adultos (mayores de 2 años), indicando la amplia distribución y exposición a dicho virus en el ganado bovino de esas provincias (Odeón y col., 2001). Los únicos estudios previos de tipificación genética de aislamientos nacionales fueron realizados en INTA hace ya más de diez años, los cuales confirmaron la presencia de BVDV 1a, 1b y 2 en 29 muestras provenientes de 4 laboratorios de diagnóstico. De ellos, el 45% correspondían a BVDV 1a, el 40% a BVDV 1b, el 10% a BVDV 2; y 2 aislamientos no pudieron ser clasificados (Jones y col., 2001).

Desde el punto de vista económico, esta enfermedad ocasiona pérdidas considerables, principalmente con el daño reproductivo que produce en los vientres con la disminución del rendimiento productivo de éstos, pero además de esto también produce disminución en la producción láctea de aquellos vientres que generaron su inmunidad natural y que alcanzaron a parir una cría, nacimiento de terneros débiles con poca ganancia diaria de peso (posibles PI), bajando las defensas y dejándolos expuestos a los animales más susceptibles a contraer infecciones bacterianas, asegurándonos con todo esto de obtener una mayor merma en la producción. Debido al daño producido sobre el estado sanitario de los animales infectados. Otro aspecto relevante relacionado con el BVDV es su potencial como contaminante de productos biológicos como por ejemplo con el suero fetal bovino (SFB). Los *Pestivirus* como contaminantes de productos biológicos adquieren aún más importancia para algunos autores, que los consideran peligrosos en cuanto a las infecciones zoonóticas emergentes (Giangaspero, 2013).

En general, los esfuerzos orientados al control de la infección por BVDV se han concentrado en dos puntos principales: la vacunación (Bolin, 1995) y la identificación y eliminación de animales PI (Harkness, 1987). El objetivo principal de la vacunación es prevenir la infección trasplacentaria y en consecuencia, evitar el establecimiento de

nuevas infecciones persistentes. Sin embargo, las evidencias indican que no todos los productos disponibles en el mercado satisfacen dichos objetivos (Thurmond y col. 2001, Van & Woodard 1997, Van Campen y col., 2000), y de acá surge la formulación de esta vacuna probada (Vedevax Block), ya que este virus demuestra su complejidad con sus diferencias antigénicas propias, los cambios en la prevalencia de los distintos genotipos virales circulando dentro del rodeo. Las evidencias epidemiológicas sugieren que las vacunas basadas en BVDV de genotipo 1 protegen parcialmente contra BVDV de genotipo 2. Asimismo, fue reportado que muchos de los aislamientos de BVDV 2 provinieron de hembras que han sido vacunadas contra BVDV 1 (Ridpath y col., 2007).

En Argentina, la estrategia que se emplea para controlar la infección por BVDV consiste en la vacunación con formulaciones inactivadas. Sin embargo, las vacunas presentes en el mercado nacional no son lo suficientemente efectivas para asegurar la protección contra el BVDV (Pecora, 2014), de acá surge la idea de la formulación de la vacuna probada, “Vedevax Block”.

Actualmente, no se dispone de información de las cepas circulantes en el país, razón por la cual aquellos que formularon la vacuna se propusieron como objetivo la fusión entre la glicoproteína E2 y un anticuerpo de cadena simple a fin de asegurar la unión de la proteína a las células presentadoras de antígeno (APCH), mejorando así la inmunogenicidad de la misma para así asegurar la protección de los bovinos contra las cepas que circulan en Argentina (Pecora, 2014).

Se propusieron genotipificar 30 cepas aisladas recientemente de la región de la Pampa Húmeda, conocer sus características antigénicas y con esa información desarrollar una vacuna a subunidad basada en la glicoproteína E2 truncada (“E2T”) que a su vez, la región de la proteína E2 constituye la secuencia de mayor variabilidad del genoma viral del BVDV (Pecora, 2014).

Generalmente las vacunas a subunidad tienen como principal limitación la baja inmunogenicidad y por tanto, suelen ser necesarias dosis vacunales muy elevadas y repetidas para generar una adecuada respuesta inmune. Debido a esto, con el fin de mejorar la inmunogenicidad de la vacuna desarrollada y disminuir la cantidad de antígeno requerido, se propuso utilizar el anticuerpo de cadena simple “APCH” para dirigir la proteína E2T de distintos genotipos a células presentadoras de antígeno. Los resultados de este trabajo demuestran la presencia de tres subgenotipos del BVDV: 1a, 1b y 2a en la

región de la “Pampa Húmeda”, y una importante diversidad antigénica entre ellos, lo cual es de gran importancia para el desarrollo de vacunas y kits diagnósticos para el BVDV (Pecora, 2014).

En cuanto al desarrollo de la vacuna, se logró generar formulaciones oleosas basadas en la proteína E2T 1a (de la cepa Singer, BVDV 1a) y en la proteína de fusión APCH E2T 1a. Estas dos vacunas fueron evaluadas y comparadas en el Modelo Cobayo. Si bien las dos indujeron anticuerpos neutralizantes, la proteína E2T direccionada por APCH fue eficiente: indujo una mayor respuesta humoral a menores dosis. En base a ello, se evaluó la vacuna APCH E2T 1a en bovinos adultos y ésta demostró ser capaz de inducir altos niveles de anticuerpos neutralizantes hasta el día 360 post primovacunación (Pecora, 2014).

Con el fin de desarrollar una vacuna capaz de proveer protección contra los tres subgenotipos del BVDV se generó una vacuna a subunidad utilizando las proteínas E2T (E 2 truncada) de las distintas cepas del virus, “1a”, ”1b” Y “2a”, las cuales son antigénicamente diferentes entre sí, fusionadas a APCH. Primero se evaluó la vacuna en cobayos, teniendo una muy buena respuesta desarrollando anticuerpos para las tres cepas. Por último, se realizaron ensayos en terneros privados de calostro utilizando cepas heterólogas, y se observó en todos los animales vacunados una eliminación o reducción de los siguientes signos, hipertermia, viremia, excreción ARN viral, leucopenia y signología clínica asociada a las cepas (Pecora, 2014).

OBJETIVOS

General

Evaluar el uso de una vacuna contra VDVB, midiéndola por medio de la cantidad de terneros logrados al final de la gestación.

Particular

Lograr la mayor cantidad de terneros al final de la gestación.

Valorar la respuesta vacunal por medio de la medición serológica de los títulos de anticuerpos.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en la Estancia VILLA NUEVA, ubicada en la localidad de Mercedes, Corrientes. Se realizó una recopilación de datos desde el 12 de abril hasta el 20 de septiembre de 2018. Los animales que comprendieron el estudio fueron un total de 32 vacas y 60 vaquillas, las mismas se dividieron en un grupo “Tratado” (34 vaquillas y 15 vacas) y un grupo “Control” (26 vaquillas y 17 vacas). Estos animales, tanto vacas como vaquillas, tienen el antecedente de que 7 meses previos al ensayo fueron vacunadas con una vacuna reproductiva tradicional (la cual tiene inmunogenicidad contra el VDBV), las vacas con una dosis y las vaquillas con dos dosis con un intervalo de 28 días.

Los recursos económicos para el trabajo fueron brindados por “Laboratorio Vetanco”, quienes tienen la representación de la vacuna evaluada. Entre los mismos están incluidos elementos de toma y remisión de muestras para diagnósticos microbiológicos e inmunológicos, guantes de palpación rectal para el diagnóstico de gestación y un vehículo para transporte. Por parte del productor obtuvimos el bien primordial, como ser los animales, además del apoyo fundamental del personal del establecimiento y sus herramientas de trabajo para realizar los movimientos de la hacienda.

Las tomas de muestras de sangre para serología se realizaron en cuatro oportunidades en ambos grupos. La primera cuando se administró la primer dosis de vacuna (T0), la segunda 30 días más tarde, momento en el cual se aplicó una segunda dosis vacunal (T30), la tercera a los 60 días de la primera, en la cual solo se tomaron muestras para serología (T60), al igual que en la cuarta y última, a los 150 días (T150).

- Las actividades realizadas iniciaron el 12 de Abril de 2018, arreando el grupo de animales desde el potrero al corral, chequeando la preñez y realizando la T0 de la arteria y/o vena coccígea y vacunando con el inmunógeno probado, “Vedevax Block”, a las primeras 34 vaquillas y 15 vacas (Grupo “Tratado”), identificándolas con pintura asfáltica en el lomo del lado del lazo, además de tomar datos en la planilla de laboratorio por orden de ingreso a la manga y coincidiendo con el orden de tubos de muestra de sangre, anotando número de tubo, caravana de trazabilidad, caravana de registro particular (RP), categoría y diagnóstico de gestación. El mismo trabajo se realizó con el grupo “Control”, de 26 vaquillas y 17 vacas, con la diferencia que a éste no se le aplicó la vacuna probada, no se lo identificó con

pintura asfáltica y fue diferenciado por planilla del grupo anterior. Al finalizar la labor, se llevó a la totalidad del lote al potrero de origen en el cual permaneció todo el ensayo.

- El 16 de Mayo de 2018 se trajo nuevamente el grupo de animales al corral, verificando la preñez, extrayendo la muestra de sangre de la totalidad del lote, y revacunando con la segunda dosis (T30) a las identificadas con pintura asfáltica, corroborando con las caravanas registradas en las planillas.
- El 21 de Julio de 2018 se realizó una labor similar que en el mes de Mayo, pero solamente controlando que se mantenga la gestación y tomando la muestra del grupo “Tratado” y “Control” (T60).
- A continuación se realizó un seguimiento diario, controlando el estado del lote, corroborando la ausencia de pérdidas de líquidos o abortos, además de controlar el ambiente en el que se encuentra el lote, asegurándonos que tenga los requerimientos necesarios para el mantenimiento de la preñez (Agua, pasto, sombras).
- El 20 de Septiembre (T150), una vez que terminaron las pariciones en el lote, se extrajeron muestras de sangre de algunos de los animales, grupos tratado y control, para medir el nivel de anticuerpos.

Las muestras fueron remitidas al INTA de Castelar para su análisis. Los sueros se analizaron por medio de un ELISA de competencia. Los resultados del mismo se presentan como un porcentaje de desplazamiento de la muestra sobre un suero control positivo fuerte. Las muestras con un porcentaje de desplazamiento superior al 11% son consideradas positivas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la medición de los títulos de anticuerpos arrojados por ELISA de competencia en porcentaje de positividad (PP%) por animal se encuentran en el anexo. Los promedios del PP% por grupo de vaquillas y vacas vacunadas y controles se detallan en la tabla n°1. También podemos ver en las figuras 1 y 2 como se comportaron los títulos de AC en las curvas tanto de vacas como de vaquillas.

MUESTRAS	Promedio del PP% de cada grupo por día de muestreo			
	0	30	60	150
Vaquillas vacunadas	23	78	79	68
Vaquillas control	15	26	26	15
Vacas vacunadas	57	64	83	78
Vacas control	54	56	52	58

Tabla n°1: promedio de los PP% de cada grupo detallado por día de muestreo

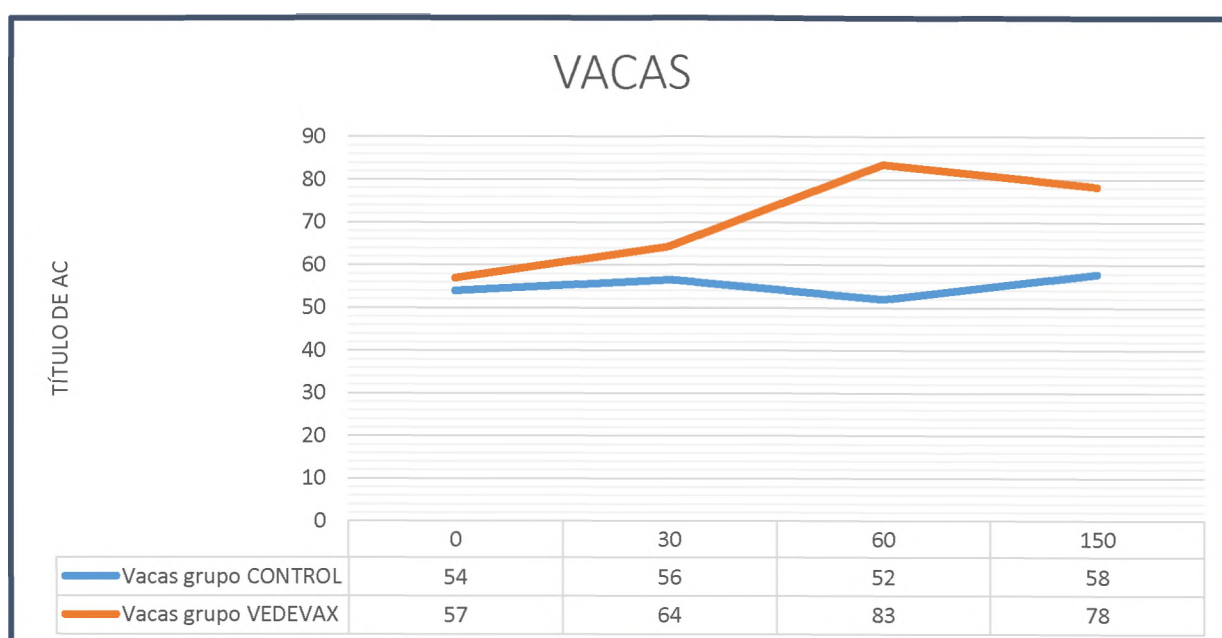


Figura 1: Evolución del nivel de anticuerpos de las vacas en experimentación por la técnica de ELISAc, la línea azul representa el Grupo Control y la línea naranja el Grupo Tratado con Vedevax.

Como se puede observar en la Figura 1, los animales de ambos grupos presentaban anticuerpos contra el VDVB al inicio de la experiencia, lo cual se puede estimar que se deben a aquellos AC obtenidos por vacunaciones anteriores, que es levemente superior en el grupo tratado (57%) que en el grupo Control (54%). Luego de la inmunización el título alcanzado por ambos grupos fue significativamente distinto. En los animales del grupo Control el nivel de anticuerpos tuvo un pequeño incremento hacia el día 30 de

iniciada la investigación (PP% 56) lo cual podemos estimar que se deba a una circulación viral debido a la vacunación en el grupo tratado, ya que estos animales convivían en el mismo potrero. Luego podemos ver que los títulos disminuyen a valores de 52% para prácticamente mantenerse similares hasta el final del ensayo (T150- PP%58). Los animales del grupo vacunado tuvieron un incremento significativo al T30 (PP% 64) que fue en aumento hacia el día T60 con un PP% 83 para mantenerse en niveles mayores al grupo control hasta el día T150 (PP% 78). Pecora, (2014) realizó un ensayo con la vacuna APCH E2T 1ª (1,5 µg por dosis) en bovinos adultos pertenecientes a un campo experimental del CICVyA, Castelar, en el mismo todos los sueros de los animales del ensayo fueron analizados y los resultados mostraron que los animales vacunados generaron altos títulos de AC, que se mantuvieron hasta el año pos inoculación.

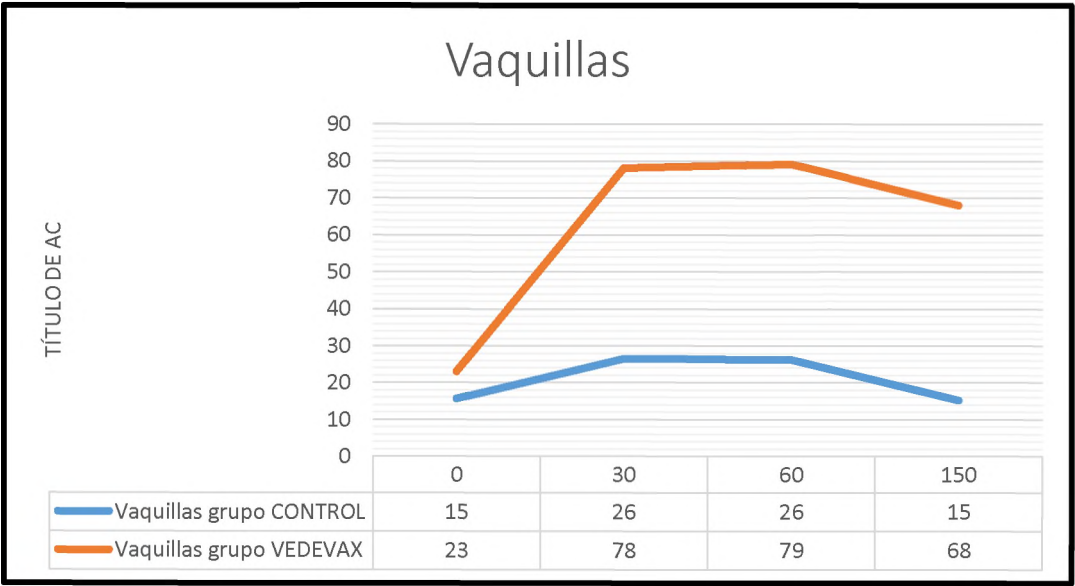


Figura 2: Evolución del nivel de anticuerpos de las vaquillonas en experimentación por medio de la técnica de ELISAc, la línea azul representa el Grupo Control y la línea naranja el Grupo Tratado con Vedevax.

Como se observa en la Figura 2 la vacunación con Vedevax Block logró elevar de manera significativa los anticuerpos contra VDVB en la categoría vaquillona en comparación con la categoría vacas, mostrando al día T30 valores de PP% 78, para llegar a su punto mayor hacia el día T60 con valores de PP% 79 y sufrir una pequeña disminución hacia el día T150 alcanzando un PP% de 68. Por otro lado, los animales del grupo Control tuvieron un pequeño aumento al T30 se mantuvieron y hacia el día 150 presentaban los mismos valores con los que iniciaron el ensayo.

En estudios recientes se pudo demostrar cómo esta vacuna evoca una respuesta inmune humoral en terneros privados de calostro, y una respuesta celular inducida por la misma. También se logró reducir o eliminar los signos clínicos del VDVB en terneros luego de un ensayo vacunal con la misma. (Pecora, 2014) Por otro lado, también se han desarrollado plantas de alfalfa transgénicas que expresan la proteína estructural E2 de DVB fusionada a una molécula de APCH, la cual va dirigida hacia las células presentadoras de antígeno, las mismas fueron utilizadas para inmunizar con sus extractos vegetales cobayos y bovinos. Los animales tratados con esta vacuna al final del ensayo mostraron una protección virológica completa. (Aguirreburualde y col., 2012).

Hacia el final del ensayo una vaquilla del grupo Tratado no presento cría, por ello se procedió a la toma de muestra de flujo vaginal y sangre, y se envió al laboratorio a analizar para descartar algún agente de los que componen el llamado “síndrome de vaca vacía”, dando negativo a todos. Por ello se procedió a realizar un análisis de Elisa de Antígeno, para descartar que fuera un animal persistentemente infectado, dando como resultado positiva a éste.

Como objetivo general del trabajo se estableció obtener la mayor cantidad de terneros al final de la gestación, y habiendo obtenido solo un 1.09% de merma preñez-parición podemos considerar que el ensayo tuvo muy buenos resultados.

Con respecto a los objetivos particulares, se pudo ver que los niveles de respuesta de la vacuna probada mostraron muy buenos resultados, según lo que se obtuvo en el análisis serológico por ELISA de competencia, en los gráficos se ve la diferencia en la respuesta inmune del lote Tratado con el lote Control, levantando la inmunidad tanto en vacas como en vaquillas.

CONCLUSIONES

Por lo presentado en este trabajo, quedó en evidencia la diferencia de cobertura inmunológica de un animal vacunado de otro no vacunado. Al igual que la diferencia entre un adulto con uno en crecimiento, ya que en el análisis de laboratorio, demostró que ambos grupos obtuvieron altos títulos de AC pero la curva de las vaquillas fue más prominente que la de las vacas. Lo cual es muy importante destacar debido a que esta categoría es la que sufren las principales mermas productivas en sus primeras infecciones, que deberíamos tratar de disminuirlas logrando una inmunogenicidad adecuada. Cabe destacar aquí la importancia del uso de las vacunas monovalentes principalmente en

aquellas enfermedades altamente complejas de controlar y más aun de erradicar del rodeo, generando porcentajes de mermas muy altos en los rodeos no controlados.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRREBURUALDE, M., GÓMEZ, M., OSTACHUK, A., WOLMAN, F., ALBANESI, G., PECORA, A., ODEÓN, A., ARDILA, F., ESCRIBANO, J., SANTOS, M., WIGDOROVITZ, A. 2012. Efficacy of a BVDV subunit vaccine produced in alfalfa transgenic plants. *Veterinary Immunology and Immunopathology* (2013) 151(3-4) 315-324.
- BAKER, J. C. 1990. Clinical aspects of bovine virus diarrhoea virus infection. *Rev Sci Tech*, 9(1), 25-41.
- BAKER, J. C. 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 425-445.
- BOLIN, S. R. 1995. The pathogenesis of mucosal disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 489-500.
- BOLIN, S. R., MCCLURKIN, A. W., CUTLIP, R. C., & CORIA, M. F. 1985. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *American journal of veterinary research*, 46(3), 573-576.
- FREDRIKSEN, B., SANDVIK, T., LØKEN, T., & ØDEGAARD, S. A. 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Veterinary Record*, 144(5), 111-114.
- GIANGASPERO, M. 2013. Pestivirus species potential adventitious contaminants of biological products. *Trop. Med. Surg*, 1, 1-4.
- HARKNESS, J. W. 1987. The control of bovine viral diarrhoea virus infection. *Annales de recherchesveterinaires. Annals of veterinary research*, 18(2), 167-174.
- JACOBO, R. A. 2007. Enfermedades infecciosas de grandes animales domésticos. Ed. Moglia SRL-Corrientes-Argentina, 32-38.
- JONES, L. R., ZANDOMENI, R., & WEBER, E. L. 2001. Genetic typing of bovine viral diarrhea virus isolates from Argentina. *Veterinary microbiology*, 81(4), 367-375.
- LANYON, S. R., HILL, F. I., REICHEL, M. P., & BROWNLIE, J. 2014. Bovine viral diarrhoea: pathogenesis and diagnosis. *The Veterinary Journal*, 199(2), 201-209.

- ODEON, A. C., SPATH, E. J. A., PALOMA, E. J., LEUNDA, M. R., SAINZ, I. F., PEREZ, S. E., & CANO, A. 2001. Seroprevalencia de la diarrea viral bovina, herpesvirus bovino y virus sincicial respiratorio en Argentina. *Revista de medicina veterinaria-Buenos Aires*-, 82(4), 216-221.
- PECORA, ANDREA. 2014. Desarrollo de una vacuna a subunidad contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina tipo 1 y 2 basadas en la optimización de la presentación antigénica de la proteína E2. Tesis Doctoral. Facultad de ciencias veterinarias Universidad de Buenos Aires.
- PECORA, A., AGUIRREBURIALDE, P., & SOL, M. 2017. Actualización en diarrea viral bovina, herramientas diagnósticas y estrategias de prevención. Ediciones INTA.INTA-Buenos Aires Argentina. (2017) 4-24.
- RIDPATH, J. F., NEILL, J. D., & PETERHANS, E. 2007. Impact of variation in acute virulence of BVDV1 strains on design of better vaccine efficacy challenge models. *Vaccine*, 25(47), 8058-8066.
- THURMOND, M. C., MUÑOZ-ZANZI, C. A., & HIETALA, S. K. 2001. Effect of calthood vaccination on transmission of bovine viral diarrhea virus under typical drylot dairy conditions. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(7), 968-975.
- VAN CAMPEN, H., VORPAHL, P., HUZURBAZAR, S., EDWARDS, J., & CAVENDER, J. 2000. A case report: evidence for type 2 bovine viral diarrhea virus (BVDV)-associated disease in beef herds vaccinated with a modified-live type 1 BVDV vaccine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 12(3), 263-265.
- VAN, H. C., & WOODARD, L. 1997. Fetal infection may not be preventable with BVDV vaccines. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(4), 480-480.
- VANROOSE, G., NAUWYNCK, H., SOOM, A. V., VANOPDENBOSCH, E., & KRUIF, A. D. 1998. Replication of Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viral Diarrhea Virus in Zona-Free and Zona-Intact In Vitro-Produced Bovine Embryos and the Effect on Embryo Quality. *Biology of reproduction*, 58(3), 857-866.

ANEXO

MUESTR A	PP%				VACUNA	CATEGORI A
	0	30	60	150		
1	76,26	87,19	87,35		VEDEVA X	Vaquilla
2	70,64	86,41	34,10		VEDEVA X	Vaquilla
3	37,69	84,70	82,67	74,61	VEDEVA X	Vaquilla
4	61,11	87,66	88,13	86,15	VEDEVA X	Vaquilla
5	53,77	87,98	86,57	59	VEDEVA X	Vaquilla
6	70,80	85,32	85,01	81,75	VEDEVA X	Vaquilla
7	20,20	85,48	84,07		VEDEVA X	Vaquilla
8	15,98	75,17	73,14	13,18	VEDEVA X	Vaquilla
9	15,67	78,45	85,48		VEDEVA X	Vaquilla
10	15,83	81,88	84,38	83,29	VEDEVA X	Vaquilla
11	18,95	82,35	82,98		VEDEVA X	Vaquilla
12	18,95	87,82	18,95		VEDEVA X	Vaquilla
13	17,39	80,01	79,85		VEDEVA X	Vaquilla
14	16,45	86,41	86,57	68,46	VEDEVA X	Vaquilla
15	31,13	87,19	85,94		VEDEVA X	Vaquilla

16	26,29	87,66	86,73		VEDEVA X	Vaquilla
17	16,61	80,01	80,79	57,03	VEDEVA X	Vaquilla
18	18,53	84,97	85,49	81,98	VEDEVA X	Vaquilla
19	33,57	77,97	84,44	60,02	VEDEVA X	Vaquilla
20	19,58	85,66	85,31		VEDEVA X	Vaquilla
21	16,96	29,55	85,49		VEDEVA X	Vaquilla
22	14,34	62,76	80,59		VEDEVA X	Vaquilla
23	29,37	81,82	83,74		VEDEVA X	Vaquilla
24	9,27	80,95	86,10		VEDEVA X	Vaquilla
25	10,52	85,32	84,85		VEDEVA X	Vaquilla
26	-9,94	51,12	79,54	78,24	VEDEVA X	Vaquilla
27	10,83	85,94	87,66		VEDEVA X	Vaquilla
28	3,64	81,57	83,13		VEDEVA X	Vaquilla
29	2,80	9,44	33,22		VEDEVA X	Vaquilla
30	7,87	81,12	82,17		VEDEVA X	Vaquilla
31	5,94	83,22	84,44	59,26	VEDEVA X	Vaquilla

32	5,77	83,04	83,39		VEDEVA X	Vaquilla
33	6,64	83,04	84,79	79,63	VEDEVA X	Vaquilla
34	9,44	77,80	84,09		VEDEVA X	Vaquilla
Promedio	22,91	78,15	79,15	67,89		

Muestra	PP%					
	0	30	60	150	VACUNA	CATEGORI A
1	35,89	50,28	39,11	7,63	CONTRO L	Vaquilla
2	37,29	28,49	84,22		CONTRO L	Vaquilla
3	63,41	69,69	74,72		CONTRO L	Vaquilla
4	36,85	33,24	27,02	41,61	CONTRO L	Vaquilla
5	24,65	22,55	34,97	3,59	CONTRO L	Vaquilla
6	16,96	16,43	15,73	4,58	CONTRO L	Vaquilla
7	16,06	86,87	88,13		CONTRO L	Vaquilla
8	13,41	20,25	20,25	5,01	CONTRO L	Vaquilla
9	16,06	9,50	5,17	78,00	CONTRO L	Vaquilla
10	17,46	17,18	16,34	12,20	CONTRO L	Vaquilla
11	13,13	20,53	9,64		CONTRO L	Vaquilla

12	17,32	17,74	16,76		CONTRO L	Vaquilla
13	12,99	26,12	14,94	3,59	CONTRO L	Vaquilla
14	16,18	63,01	58,38		CONTRO L	Vaquilla
15	15,17	18,79	17,63		CONTRO L	Vaquilla
16	5,87	13,55	15,50		CONTRO L	Vaquilla
17	9,92	18,30	19,55	1,09	CONTRO L	Vaquilla
18	11,17	8,52	8,24		CONTRO L	Vaquilla
19	8,66	15,50	4,89		CONTRO L	Vaquilla
20	8,52	7,12	8,66	0,65	CONTRO L	Vaquilla
21	1,54	33,10	9,64		CONTRO L	Vaquilla
22	1,54	12,71	87,15		CONTRO L	Vaquilla
23	3,63	10,89	6,28		CONTRO L	Vaquilla
24	5,78	19,22	12,57		CONTRO L	Vaquilla
25	6,79	13,44	17,92		CONTRO L	Vaquilla
26	8,24	35,55	24,28	8,50	CONTRO L	Vaquilla
	15,49	26,40	26,14	15,13		

	PP%					
muestra	0	30	60	150	VACUNA	CATEGORI A
1	75,64	83,76	82,67		VEDEVA X	Vaca
2	85,48	87,04	87,51		VEDEVA X	Vaca
3	86,41	87,98	88,29	85,82	VEDEVA X	Vaca
4	84,54	87,35	87,19		VEDEVA X	Vaca
5	84,23	87,35	84,07		VEDEVA X	Vaca
6	81,64	86,01	86,36		VEDEVA X	Vaca
7	71,68	84,62	83,04	79,52	VEDEVA X	Vaca
8	60,31	81,99	81,99	68,19	VEDEVA X	Vaca
9	59,97	84,62	84,09	77,78	VEDEVA X	Vaca
10	78,32	84,62	86,54	83,44	VEDEVA X	Vaca
11	14,11	73,14	84,70		VEDEVA X	Vaca
12	27,97	84,44	83,04	74,29	VEDEVA X	Vaca
13	16,08	82,17	84,79		VEDEVA X	Vaca
14	16,61	38,11	81,47		VEDEVA X	Vaca
15	9,97	43,01	16,95		VEDEVA X	Vaca

Promedio	56,86	64,17	83,50	78,17	5	
----------	-------	-------	-------	-------	---	--

	PP%					
muestra	0	30	60	150	VACUNA	Categoría
1	75,84	75,98	80,17	61,44	CONTROL	Vaca
2	84,22	83,52	56,42	77,23	CONTROL	Vaca
3	74,30	77,51	78,49		CONTROL	Vaca
4	71,09	81,47	76,40		CONTROL	Vaca
5	75,56	79,33	82,54	79,08	CONTROL	Vaca
6	70,95	74,30	74,30	68,19	CONTROL	Vaca
7	82,12	83,10	80,59	73,53	CONTROL	Vaca
8	72,83	77,89	77,31	68,95	CONTROL	Vaca
9	45,38	41,62	18,50		CONTROL	Vaca
10	86,42	87,14	88,29	84,10	CONTROL	Vaca
11	53,90	31,50	11,27		CONTROL	Vaca
12	1,68	2,93	6,28	3,27	CONTROL	Vaca
13	5,17	5,59	12,15		CONTROL	Vaca
14	7,37	26,88	19,51		CONTROL	Vaca
15	1,16	18,35	15,61	3,27	CONTROL	Vaca
Promedio	53,86	56,47	51,86	57,67		Vaca