
VALIDACIÓN DEL NUEVO CIVTEST® BOVIS IBRgB

Domènech, M.; Coma, E.; Gascon, S.; Boix, O.; Baratelli, M.; Blanch, M.; and Rebordosa, X.
HIPRA, Amer (Girona), Spain.



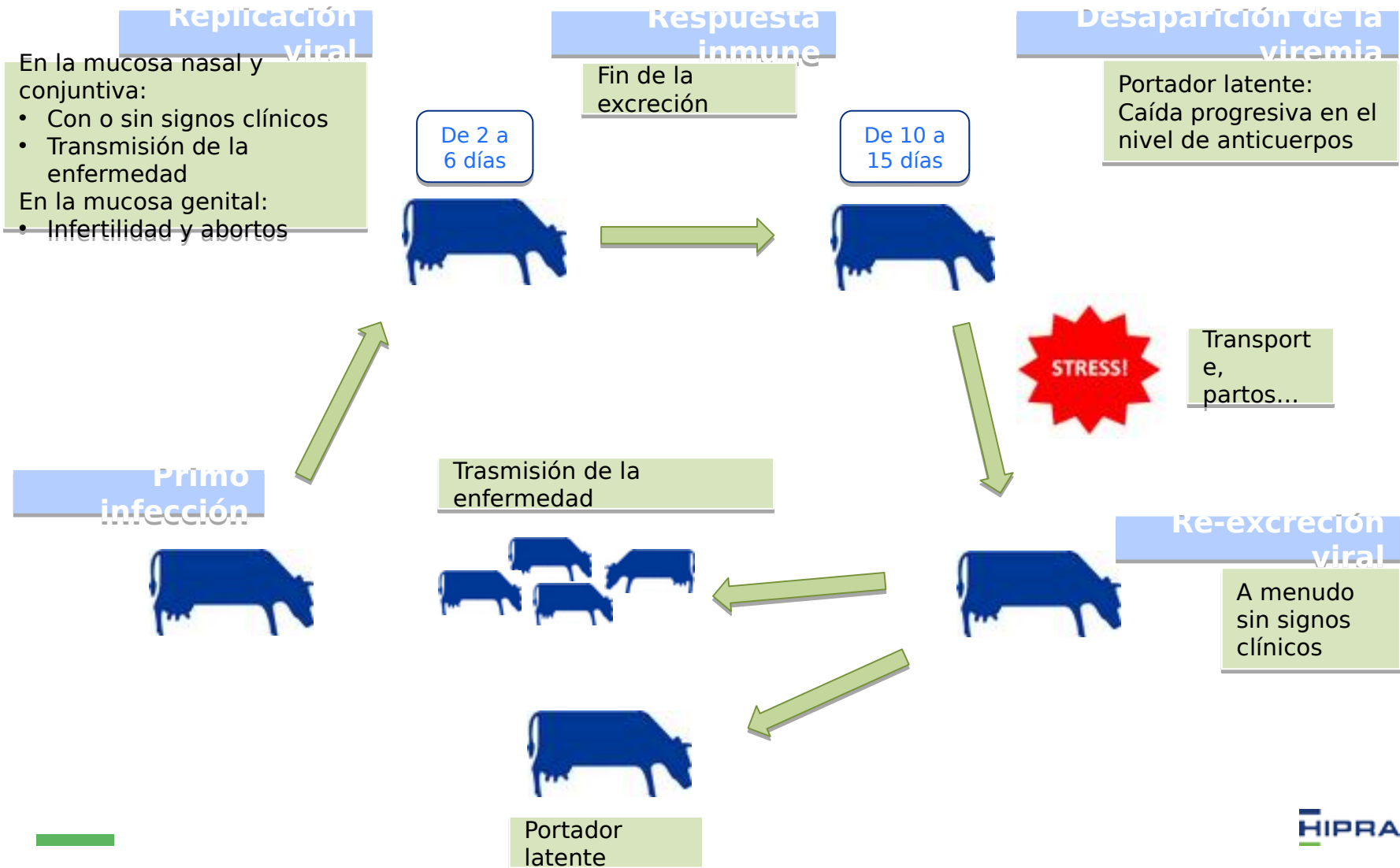
The Reference
in Prevention
for Animal Health



IBR: Infectious Bovine Rhinotracheitis

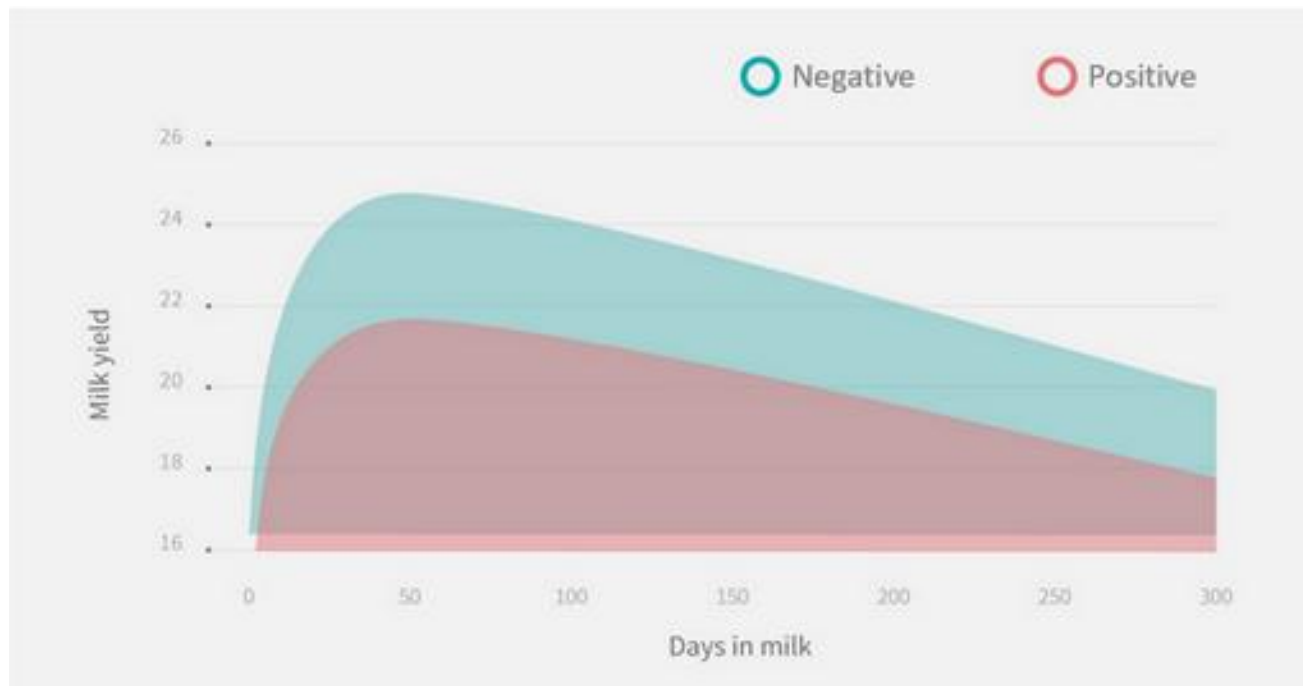
- La RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA es una enfermedad respiratoria muy contagiosa causada por el Herpesvirus Bovino-1 (**BHV-1**).
- La infección con **BHV-1** está asociada a condiciones clínicas respiratorias y reproductivas. Algunas veces, las infecciones más serias pueden asociarse a encefalitis.
- Después de la primera infección, el virus no se elimina completamente. Puede infectar las células nerviosas estableciendo una **infección crónica**. El virus que se encuentra en estado latente puede re-activarse y re-excretarse en condiciones estresantes .

CICLO DEL IBR:



Infecciones subclínicas de IBR:

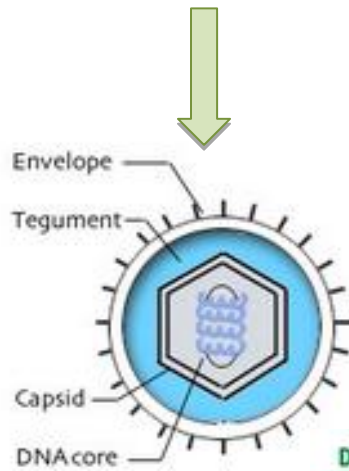
Las infecciones subclínicas de IBR: se asocian normalmente a disminución de la producción de leche (aproximadamente 2,6 litros menos por vaca; Statham 2015), calidad inferior y ratios reproductivas más bajas.



Statham, J. M. E.; Randall, L. V. and S. C. Archer (2015) "Reduction in daily milk yield associated with subclinical bovine herpesvirus 1 infection". Veterinary Record. 177: 339

CIVTEST® BOVIS IBRgB:

Genoma del BHV-1:



Anticuerpo Monoclonal anti-gB BHV-1
ELISA de bloqueo

CIVTEST® BOVIS IBRgB

Detección de anticuerpos específicos contra la glicoproteína B (gB) del Herpesvirus Bovino Tipo 1 (BHV-1), mediante ELISA de bloqueo.

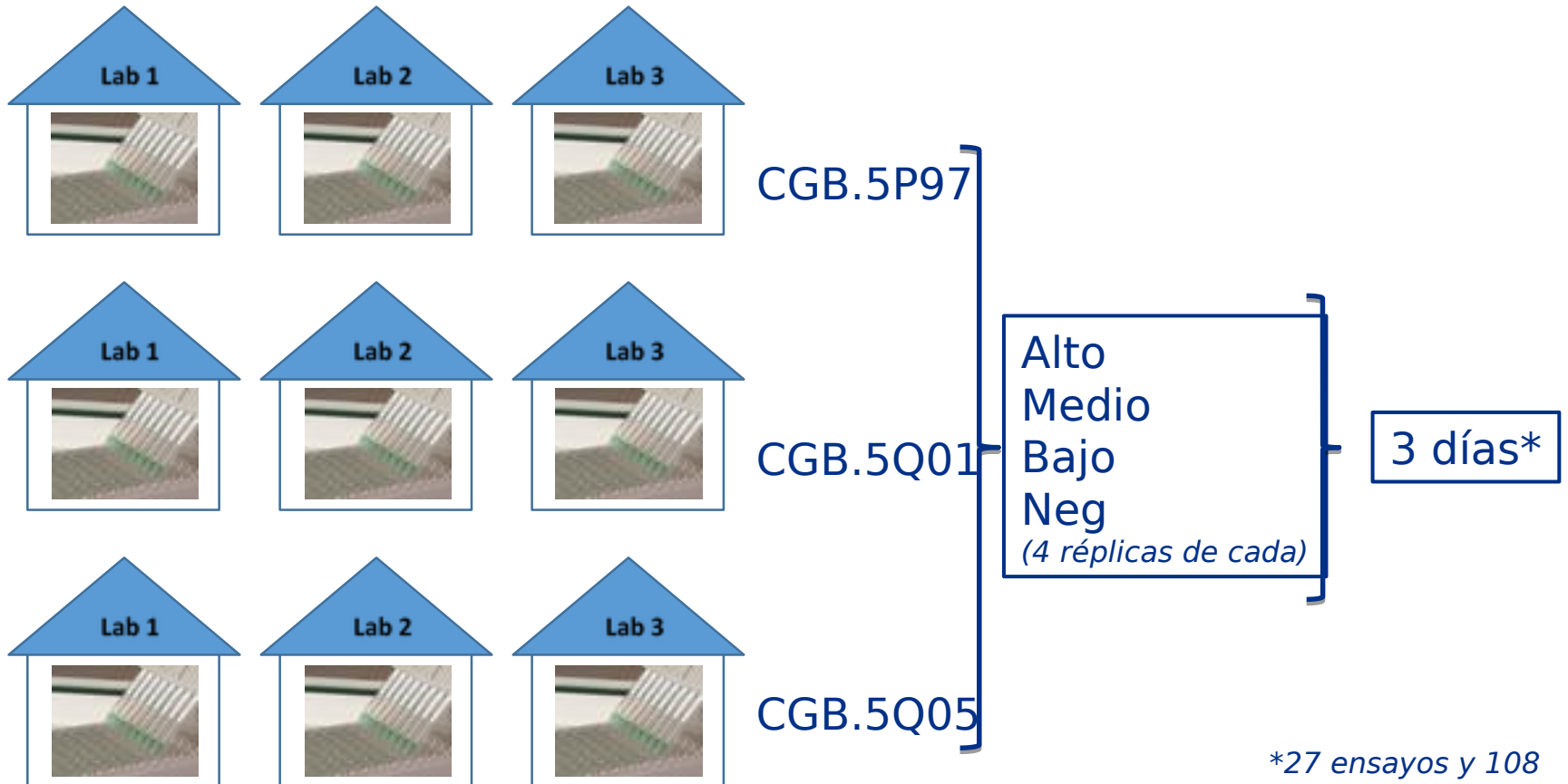


DESARROLLO DEL ENSAYO

1. Controles y Muestras					
2. Incubar	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Protocolo corto</th> <th>Protocolo largo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> +36 °C - +38 °C - 2 horas</td> <td> +2 °C - +8 °C - Noche (15-24 horas)</td> </tr> </tbody> </table>	Protocolo corto	Protocolo largo	+36 °C - +38 °C - 2 horas	+2 °C - +8 °C - Noche (15-24 horas)
Protocolo corto	Protocolo largo				
+36 °C - +38 °C - 2 horas	+2 °C - +8 °C - Noche (15-24 horas)				
3. Lavar (3 veces)					
4. Solución de Conjugado					
5. Incubar	30' +36 - +38 °C				
6. Lavar (3 veces)					
7. Solución de Sustrato					
8. Incubar en la oscuridad	15' +20 - +25 °C				
9. Solución de Paro					
10. Lectura de Resultados (450 nm)					

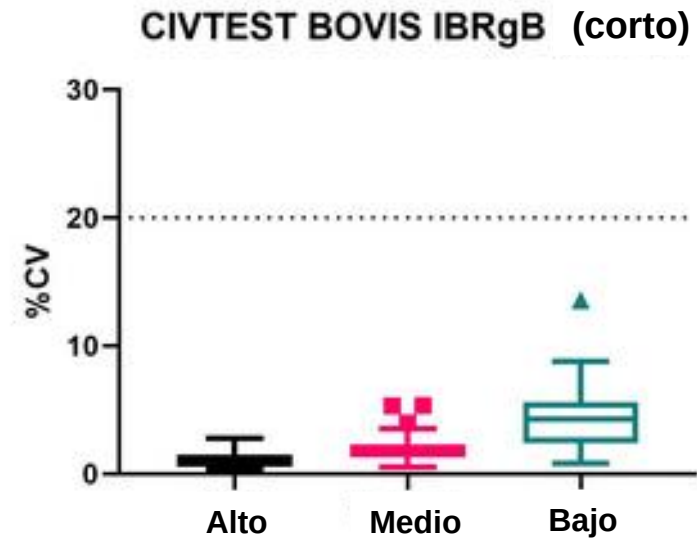
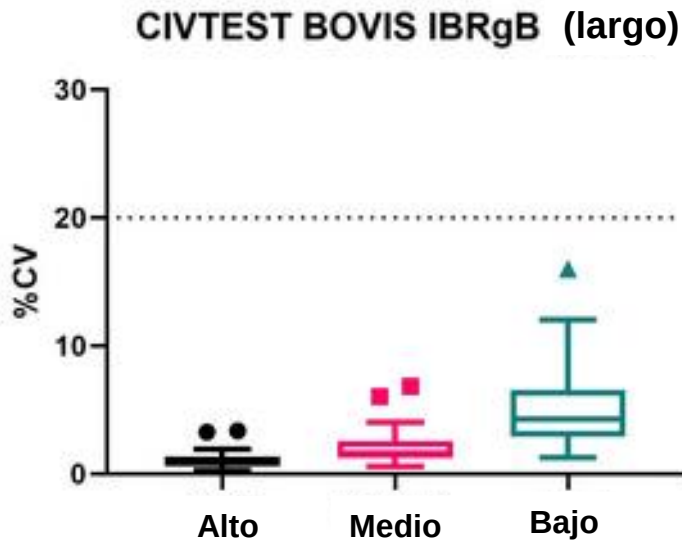
$$\%IN = \left[\frac{\text{Media } DO_{450} \text{ Control Negativo} - DO_{450} \text{ Muestra}}{\text{Media } DO_{450} \text{ Control Negativo}} \right] \times 100$$

Repetibilidad: intra e inter-placa (*largo y corto*)



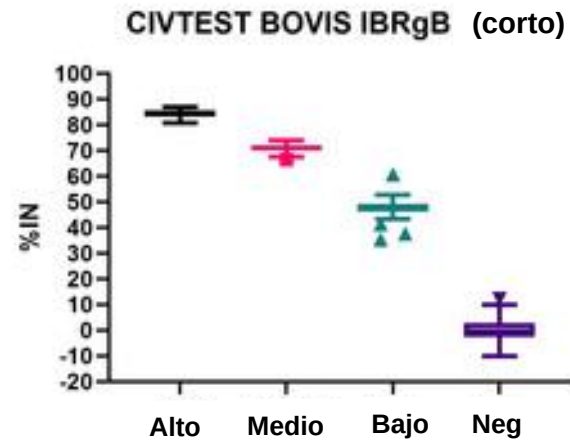
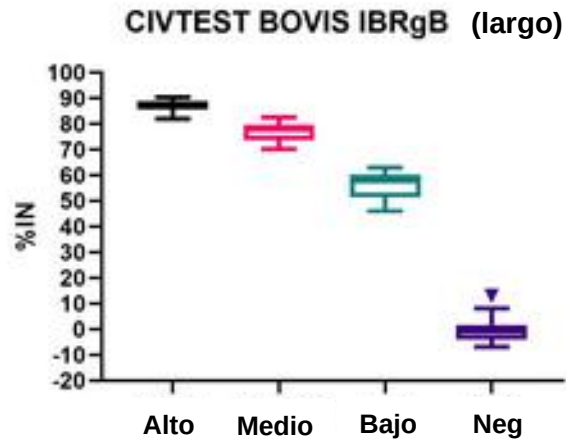
*27 ensayos y 108 réplicas de cada muestra

Repetibilidad: intra-placa (*largo y corto*)



%CV calculado de cada 4 réplicas de los 27 ensayos de cada suero.

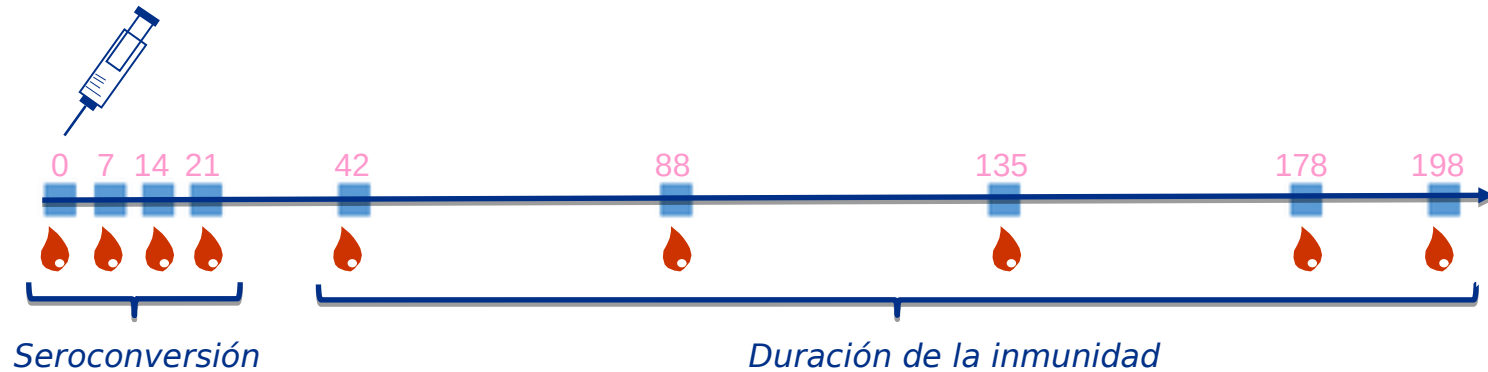
Repetibilidad: inter-placa (*largo y corto*)



	Protocolo largo		
	Alto	Medio	Bajo
Media %IN	87,3	76,8	57,2
SD	2,2	3,5	5,2
CV%	2,5	4,5	9,1
	Protocolo corto		
	Alto	Medio	Bajo
Media %IN	84,5	71,1	48,4
SD	1,6	1,7	4,8
CV%	1,9	2,4	9,8

%CV calculado a partir de los 27 ensayos de cada suero.

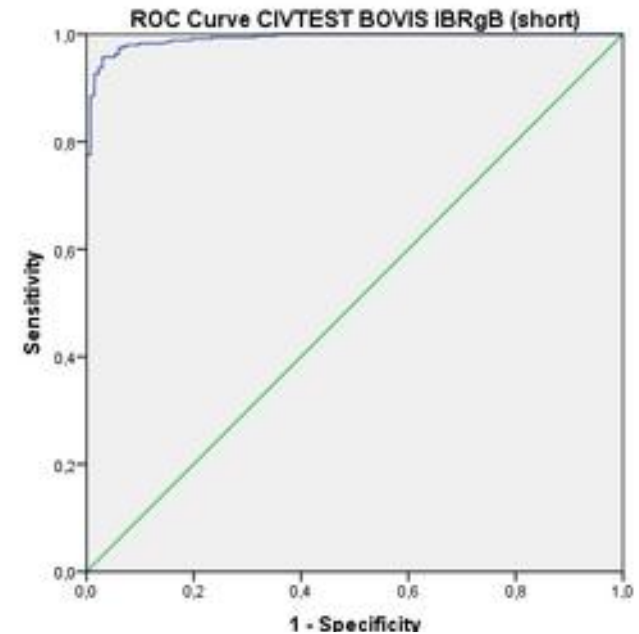
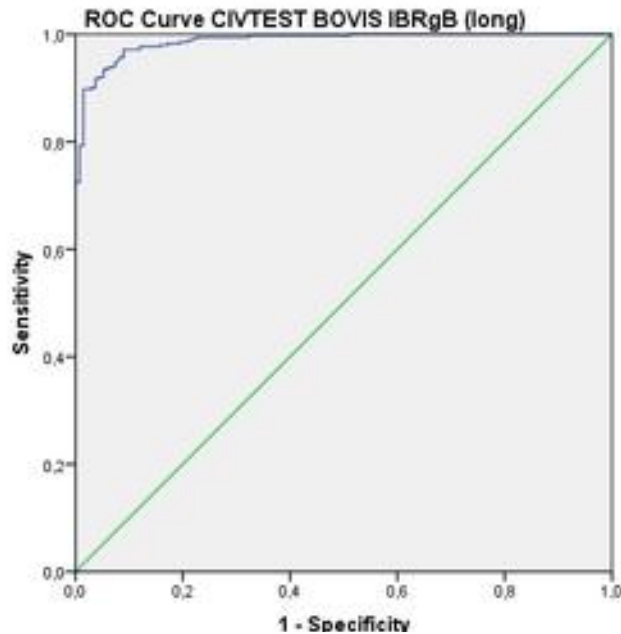
Se y Sp diagnóstica: Prueba UCAM-2017-0257



Grupo	Tratamiento	Animales
1	Vacuna A	15 terneros/grupo 1 a 3 10 terneros/grupo 4 Edad: Entre 6 y 7 meses de vida a D0 Granja de cebo con sistema de vacío sanitario.
2	Vacuna B	
3	Vacuna C	
4	NO VACUNADOS	

Estatus	Muestras	n
Negativo	D0 (Grupos 1 a 4) D7 a D198 (Grupo 4)	133
Positivo	D7 a D198 (Grupo 1 a 3)	352

Se y Sp diagnóstica:



AUC (Area Under the Curve)

Resultado de la variable: %IN_CIVTEST BOVIS IBRgB (largo)

Area	Error estándar	Significancia asintótica	Intervalo de confianza asintótico 95%	
			Límite inferior	Límite superior
.987	.004	.000	.979	.994

AUC (Area Under the Curve)

Resultado de la variable: %IN_CIVTEST BOVIS IBRgB (corto)

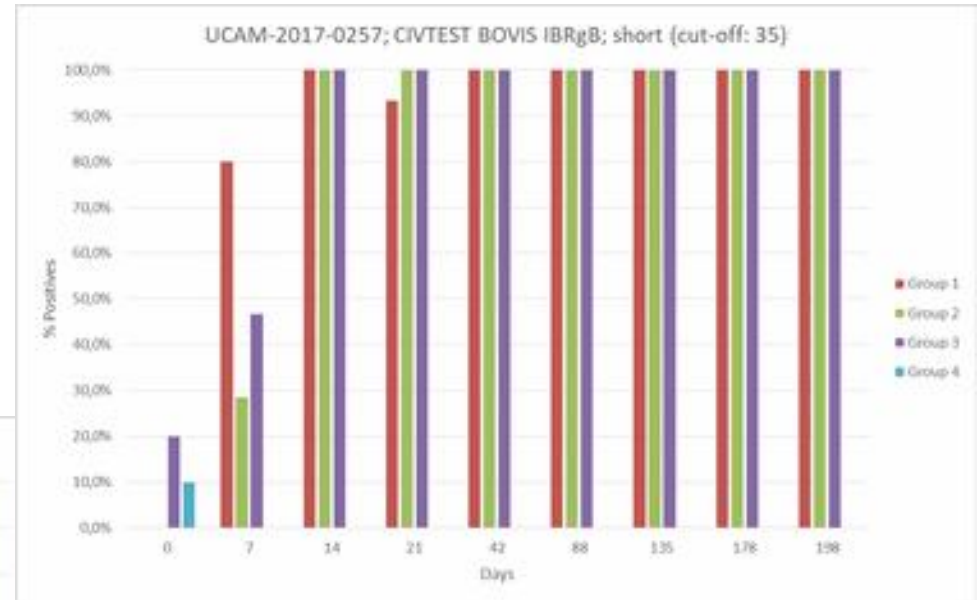
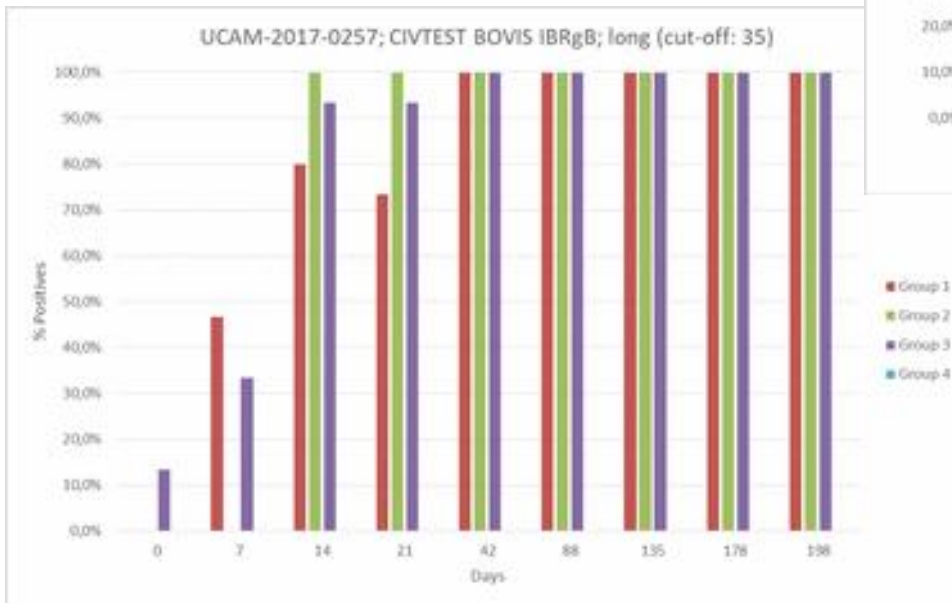
Area	Error estándar	Significancia asintótica	Intervalo de confianza asintótico 95%	
			Límite inferior	Límite superior
.992	.003	.000	.987	.994

Se y Sp diagnóstica:

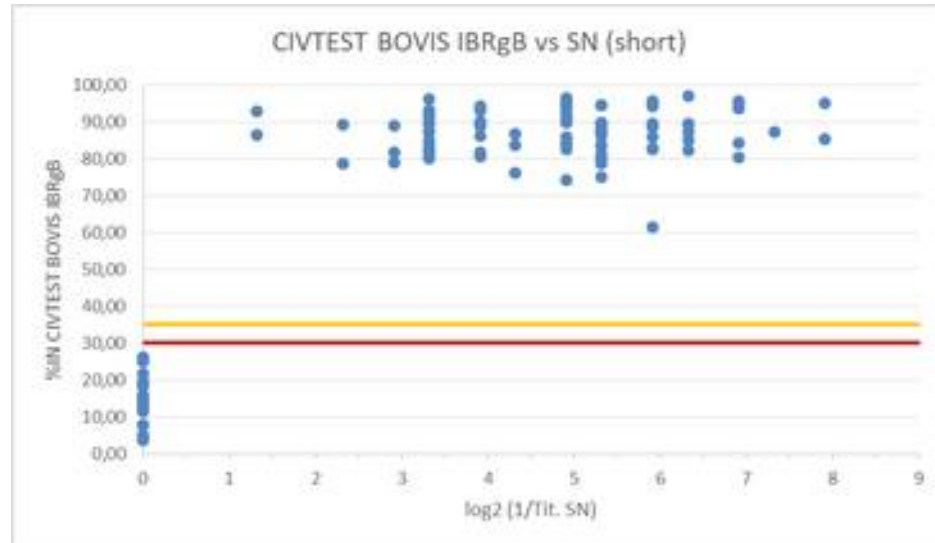
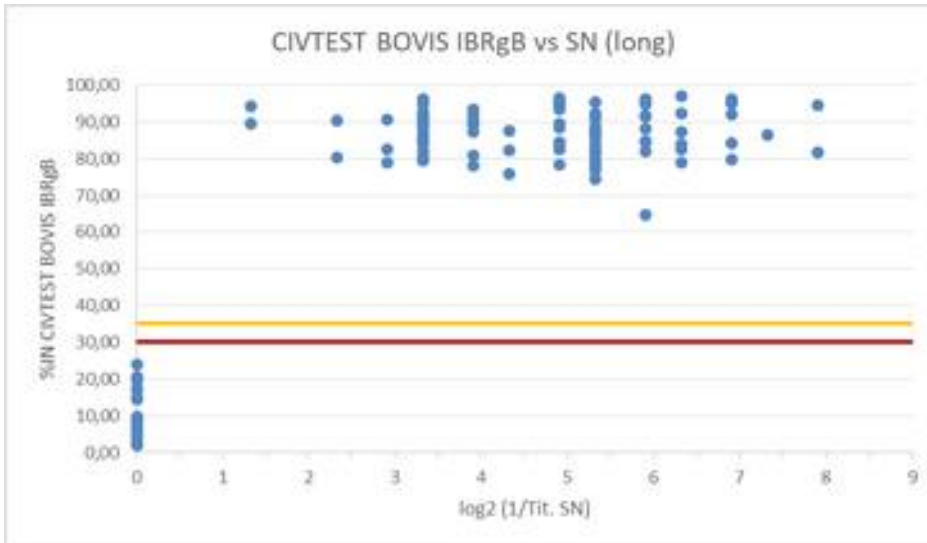
		Protocolo largo		Protocolo corto	
		Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad
%IN = 30,0		90,91	96,24	96,90	94,00
Intervalos de confianza del 95%	<i>Min.</i>	87,45	91,50	94,50	88,58
	<i>Máx.</i>	93,49	98,38	98,24	96,92

		Protocolo largo		Protocolo corto	
		Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad
%IN = 35,0		88,40	98,50	93,80	97,00
Intervalos de confianza del 95%	<i>Min.</i>	84,59	94,68	90,73	92,53
	<i>Máx.</i>	91,29	99,58	95,83	98,82

Prueba de campo: *resultados cualitativos*

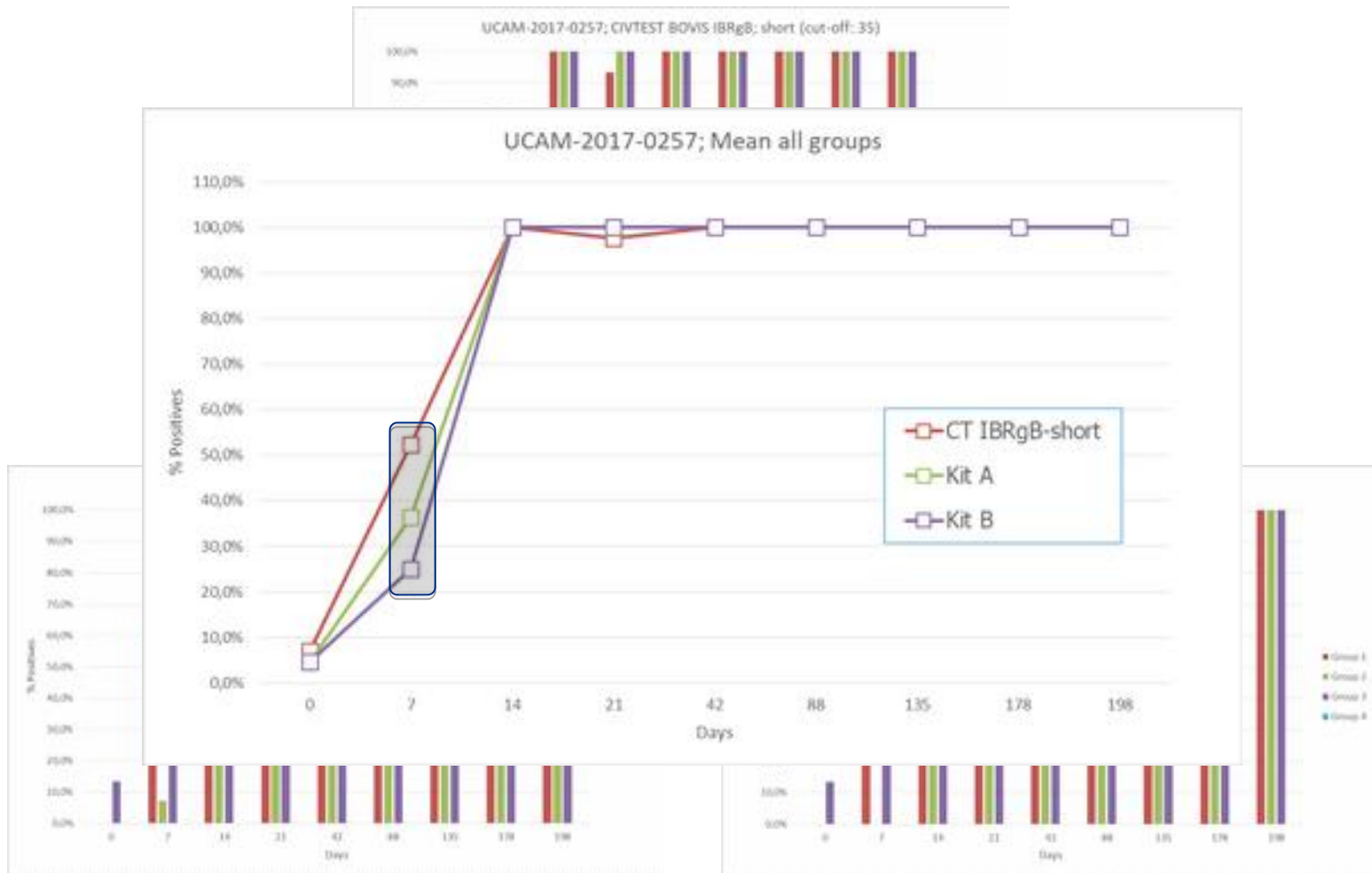


Prueba de campo: sueroneutralización



Todas las muestras de día 42 y día 178 de los grupos 1, 2, 3 y 4 (110 muestras de suero)

Prueba de campo: otros kits



Se y Sp analítica:

Referencia	Origen	Laboratorio de referencia	Título SN	BHV-1 ELISA gB	BHV-1 ELISA gE
R1b	Alemania	FLI (Friedrich-Loeffler-Institut), Laboratorio de referencia de la OIE para IBR	6	Positivo	Positivo
R2a			4	Positivo	Positivo/Dudoso
R2c			4	Positivo	Positivo/Dudoso
R3b			<2 a 2	Positivo	Dudoso/Negativo
R31b			<2	Negativo	Negativo
R32b			<2	Negativo	Negativo
Ref. 46	Francia	Anses	4	Positivo	Positivo
CASVS14	Bélgica	CODA-CERVA	-	Positivo	Positivo

Las referencias R2 y Ref. 46 son comparables con el antiguo suero EU2.

El suero CASVS14 debe ser positivo, al menos, hasta la dilución 1/512 según la legislación en Bélgica.

CIVTEST BOVIS IBRgB (largo)

Dilución CASVS14	CGB.5P97	CGB.5Q01	CGB.5Q05	Esperado
32	93.6	94.9	94.0	Positivo
64	90.4	90.7	91.6	Positivo
128	83.3	82.9	85.3	Positivo
256	70.8	69.6	72.7	Positivo
512	53.9	53.3	55.8	Positivo
1024	37.4	37.0	42.0	Positivo / Negativo
2048	24.4	25.8	31.1	Positivo / Negativo
4096	12.4	11.1	16.1	Positivo / Negativo

CIVTEST BOVIS IBRgB (corto)

Dilución CASVS14	CGB.5P97	CGB.5Q01	CGB.5Q05	Esperado
32	94.6	95.3	94.9	Positivo
64	91.0	90.8	90.3	Positivo
128	84.3	81.9	82.8	Positivo
256	69.5	66.5	70.6	Positivo
512	54.0	51.1	55.5	Positivo
1024	38.5	37.2	40.6	Positivo/ Negativo
2048	25.9	27.5	28.3	Positivo / Negativo
4096	12.5	15.6	15.3	Positivo / Negativo

Conclusiones:

- CIVTEST BOVIS IBRgB obtuvo excelentes resultados en repetibilidad intra e inter-placa en muestras de suero bovino (CV inferior a 20% en ambos casos).
- CIVTEST BOVIS IBRgB mostró también buenos resultados de sensibilidad (96,90) y especificidad diagnóstica (98,50).
- El kit ofrece como prestaciones diagnósticas:
 - La detección rápida de la sero-conversion post-vacunal (entre 7 y 14 dpv) en animales tratados con una sola dosis de vacuna (*one-shot!*) a 6-7 meses de edad (con diferentes vacunas del mercado actual).
 - Reportar un 100% de sero-conversion hasta el final del estudio (198 días).



Mireia Blanch



Oriol Boix



Massimiliano Balatelli

UCAM

Unidad científica de soporte a Marketing Hipra



The Reference
in Prevention
for Animal Health



Mercè Domènech



Sandra Gascón

Marketing Diagnóstico
Hipra



Ester Coma



Ariadna Figueras

I+D Diagnóstico
Hipra Scientific

VALIDACIÓN DEL NUEVO CIVTEST® BOVIS IBRgB

Domènech, M.; Coma, E.; Gascon, S.; Boix, O.; Baratelli, M.; Blanch, M.; and Rebordosa, X.
HIPRA, Amer (Girona), Spain.



Preguntas?