



Respuestas de anticuerpos pasivos y efecto de la edad de los lechones en la vacunación contra el virus de la peste porcina clásica[¶]

Revista
Colombiana de
Ciencias
Pecuarias

Passive antibodies response and effect of the age of the swine on the vaccination against classical swine fever virus

Alicia I Carranza^{1*}, MV; Arnaldo Ambrogio¹, MV, MS; Bibiana R Pelliza¹, MV; Silvia Romanini¹, MV, PhD.

¹Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. Río Cuarto, Córdoba. Argentina.
acarranza@ayv.unrc.edu.ar

(Recibido: 15 mayo, 2007; aceptado: 10 octubre, 2007)

Resumen

La vacunación con la cepa China es utilizada para prevenir la Peste Porcina Clásica. Pero la presencia de anticuerpos pasivos y la edad de los lechones a la vacunación pueden originar una respuesta humoral activa no satisfactoria. Se vacunaron animales de 7, 21 y 56 días de edad con y sin inmunidad pasiva. Se tomaron muestra de sangre al momento de la vacunación y a los 15 y 45 días posteriores. Los animales respondieron de distintas maneras a la vacunación, según la presencia o no de anticuerpos pasivos. Se observó que a mayor edad de vacunación, mayor era el porcentaje de animales que respondieron a la vacuna en el último muestreo. La técnica de ELISA no permitió detectar anticuerpos a los 15 días de vacunados.

Palabras clave: *cepa china, cerdos, inmunidad calostrual, inmunización*

Summary

The vaccination with the Chinese strain is used to prevent the Classical Swine Fever. But the presence of passive antibodies and age of piglets at the time of vaccination can originate an unsatisfactory active humoral response. In this study 7, 21 and 56 days animals with and without passive immunity, were vaccinated. Blood samples were taken at the time of vaccination and then at 15 and 45 days later. The animals responded in different ways to vaccination, according to the presence or not of passive antibodies. It was observed that as greater the age of vaccination, greater was the percentage of animals that responded to the vaccine in the last sampling. The ELISA technique did not allow detecting antibodies 15 days after vaccination.

Key words: *Chinese strain, swine, calostrual immunity, immunization.*

[¶] Para citar este artículo: Carranza AI, Ambrogio A, Pelliza BR, Romanini S. Respuestas de anticuerpos pasivos y efecto de la edad de los lechones en la vacunación contra el virus de la peste porcina clásica. Rev Col Cienc Pec 2007; 20:484-489

* Autor para el envío de la correspondencia y la solicitud de separatas: Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. Río Cuarto, Córdoba. Argentina. E-mail: acarranza@ayv.unrc.edu.ar

Introducción

La Peste Porcina Clásica (PPC) es una enfermedad altamente contagiosa, producida por el virus de la PPC (VPPC), que afecta a cerdos domésticos y salvajes de cualquier edad, produciendo en ellos cuadros agudos, crónicos o atípicos, de acuerdo a si la cepa actuante es de alta, moderada o baja virulencia (19). Por las altas pérdidas productivas y económicas, y por afectar el comercio internacional (2) debido al riesgo sanitario, varios países, como Brasil, utilizan la vacunación en sus programas de prevención y control de la PPC, como parte de su plan de erradicación, o bien durante brotes de la enfermedad (8, 10). Existen varias cepas vacunales para controlar la PPC, sin embargo la cepa China es la más usada por el alto grado de protección que confiere desde los cinco días de inoculada (11). Aunque su mayor inconveniente es no permitir diferenciar Ac vacunales de Ac por infección (3).

Las cerdas vacunadas transfieren anticuerpos (Ac) a sus lechones por el calostro y esta inmunidad pasiva se mantiene durante 5-8 semanas protegiendo a su camada contra la enfermedad ante una infección con el VPPC (19). Estos Ac maternos pueden suprimir la respuesta inmune protectora inducida por una vacunación en la progenie (20). Pero esta inhibición de la respuesta inmune humoral y celular (15), podría requerir de altos títulos de Ac pasivos (18).

Si bien Precausta *et al.* (12), demostraron que lechones sin inmunidad pasiva y vacunados a los 7 días eran eficientes para desarrollar inmunidad activa, se conoce que el lechón nace inmunológicamente deficiente y se necesitan varias semanas para que el sistema inmune este totalmente desarrollado (13). Según Rooke *et al.* (14), la síntesis de inmunoglobulinas G (IgG) por el lechón está condicionada a la edad del animal y al consumo y concentración de Ig en el calostro. La edad a la primo vacunación y el protocolo utilizado pueden afectar la eficacia de la vacunación contra PPC a campo (16).

Distintas técnicas para detectar Ac pasivos y Ac activos contra el VPPC fueron usadas, entre ellas ELISA que, como estrategia de control en

países libres de la PPC y que no vacunan, permiten probar varios sueros a la vez (17). Colijn *et al.* (4), desarrollaron un ELISA, que permitió detectar Ac en cerdos, 14 días pos inoculación de una cepa de baja virulencia y poco tiempo después en animales vacunados, mientras que Laevens *et al.* (9) detectaron Ac pos infección a los 20 días a través de un complex-trapping-blocking (CTB) ELISA.

El siguiente trabajo se ha realizado para observar: el desarrollo de la inmunidad activa en lechones de distintas edades de vacunación, con presencia o ausencia de inmunidad pasiva. Además se determinará, el tiempo de duración de los Ac pasivos y la detección de Ac provenientes de la inmunidad activa, medidos por un ELISA.

Materiales y métodos

Comité de ética

Todas las observaciones y tratamientos registrados durante el estudio fueron realizados de acuerdo con la legislación argentina en curso (Ley Nacional 14.346) sobre cuidado y uso para el bienestar de los animales.

Diseño del estudio

De un establecimiento porcino confinado, sin antecedentes de PPC, se seleccionaron 14 hembras primerizas híbridas (Yorkshire x Landrace), de las cuales 8 fueron vacunadas contra el VPPC a los 80 días de gestación, durante el mes de marzo de 2004, y las 6 restantes no se vacunaron. De las hembras primerizas vacunadas se eligieron, al azar, 4 lechones de cada una (32 lechones) con Ac (contra el VPPC) transferidos de la madre (ATM+) y de las primerizas sin vacunar se seleccionaron 4 lechones de cada una (24) al azar sin inmunidad pasiva (ATM-). Todos los lechones fueron identificados de manera numérica, individualmente en las orejas, y se dividieron en los grupos 1, 2 y 3, según la edad de 7, 21 y 56 días de vida, respectivamente.

Los grupos 1 y 2 estaban formados cada uno por 24 cerdos, 16 con ATM+ y 8 ATM-. En cada grupo, los 8 cerdos ATM- y 8 cerdos de los ATM+ fueron vacunados a la edad de 7 ó 21 días según fueran del grupo 1 ó 2, respectivamente. Los 8

cerdos ATM+ restantes, de cada grupo, que no fueron vacunados, sirvieron como control positivo de la inmunidad pasiva. Tres animales del grupo 2 murieron antes de finalizado el ensayo como consecuencia de traumatismos ocasionados por sus pares. El grupo 3 estaba constituido por 8 animales provenientes de madres no vacunadas (ATM-). Estos animales no presentaron Ac contra VPPC a la edad de 56 días y se vacunaron.

Tanto las madres como los lechones que fueron vacunados, recibieron una sola dosis, inoculada vía intramuscular en la tabla del cuello, de 2 ml de vacuna viva atenuada de cepa China, de Laboratorio Pfizer, Buenos Aires (Argentina).

El día de vacunación fue considerado el día 0 para cada uno de los grupos y se tomaron muestras de sangre de la vena cava a todos los lechones de los 3 grupos a los días 0, 15 y 45. Se extrajo el suero y se guardó a -70°C hasta su procesamiento. Todos los sueros se procesaron al mismo tiempo por la técnica de ELISA de Lab. Bommeli, Liebefeld-Bern (Suiza), para la detección de Ac contra la glicoproteína E2 (gp E2) del VPPC, respetando las recomendaciones del laboratorio proveedor. Las densidades ópticas (DO) se midieron con un lector Labsystem con filtro 405 y los cálculos se realizaron de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Valor} = \frac{\text{DO muestra} - \text{DO CN}}{\text{DO CP} - \text{DO CN}}$$

Donde: DO, fue la densidad óptica, CN, el promedio de los controles negativos, y CP, el promedio de los controles positivos. Los sueros con valor ≥ 60 se consideraron positivos y < 60 como negativos.

Para determinar la distribución normal de las variables se aplicaron 2 técnicas. En primera instancia se constató este supuesto con el Shapiro Wilk y para potenciar los resultados, estos fueron corroborados por el supuesto Shapiro Francia. Para el supuesto de homogeneidad de varianza, el test de elección fue el sd-test. Las variables fueron normales, por lo que se utilizó la prueba T de Student para comparar los resultados de ELISA expresados en promedio entre los distintos tratamientos. Se trabajó con un 95% de confianza con el paquete estadístico Stata 5.0 (1997).

Resultados

En todos los animales provenientes de madres vacunadas (ATM+) se detectaron Ac contra el VPPC al momento de la vacunación (día 0), tanto en el grupo 1 como en el 2 pero en distintas concentraciones. Mientras que ningún animal proveniente de madres no vacunadas (ATM-) presentaron Ac al mismo momento (día 0) en los 3 grupos (véanse Tablas 1-3).

Tabla 1: Resultados de ELISA y porcentaje de positivos y negativos de animales con y sin inmunidad pasiva (ATM+, ATM-) vacunados a los 7 días de vida (Grupo 1)

Edad	N	ATM	Vac	Muestreo día 0			Muestreo día 15			Muestreo día 45		
				ELISA Valor	% animales +	% animales -	ELISA Valor	% animales +	% animales -	ELISA Valor	% animales +	% animales -
7 días	8	+	+	110.1	100	0	85.2	50	50	47.3 ^a	25	75
	8	+	-	110.1	100	0	81	87	13	32.5 ^a	0	100
	8	-	+	20.3	0	100	15.1	0	100	85.5 ^b	63	37

a, b: letras diferentes indican diferencias significativas dentro de un mismo grupo.

En los grupos 1 y 2 hacia los 45 días posteriores a la vacunación se observó una marcada disminución tanto en los valores de DO del ELISA, como de animales positivos en los animales ATM+ y vacunados (Vac+) y ATM+ no vacunados (Vac-),

sin diferencias significativas entre ellos ($p > 0.05$). Mientras que en los ATM-Vac+ lograron una marcada seroconversión tanto cuando la dosis fue colocada a los 7 como a los 21 días con diferencias significativas a los ATM+Vac+ ($p < 0.05$).

Tabla 2: Resultados de ELISA y porcentaje de positivos y negativos de animales con y sin inmunidad pasiva (ATM+, ATM-) vacunados a los 21 días de vida (Grupo 2)

Edad	n	ATM	Vac	Muestreo día 0			Muestreo día 15			Muestreo día 45		
				ELISA	% animales		ELISA	% animales		ELISA	% animales	
				Valor	+	-	Valor	+	-	Valor	+	-
21 días	7	+	+	85.3	100	0	59.6	60	40	37.1 ^c	14	86
	8	+	-	81	100	0	77.2	60	40	12.5 ^c	0	100
	6	-	+	30.6	0	100	39	0	100	80.5 ^d	83	17

c, d: letras diferentes indican diferencias significativas dentro de un mismo grupo.

En los animales ATM-Vac+ de los 3 grupos se observó un incremento en el porcentaje de positivos directamente proporcional a la edad de vacunación (véase Figura 1).

Tabla 3: Resultados de ELISA y porcentaje de positivos y negativos de animales sin inmunidad pasiva vacunados a los 56 días de vida (Grupo 3)

Edad	n	ATM	Vac	Muestreo día 0			Muestreo día 15			Muestreo día 45		
				ELISA	% animales		ELISA	% animales		ELISA	% animales	
				Valor	+	-	Valor	+	-	Valor	+	-
56 días	8	-	+	21.1	0	100	19.6	0	100	114.8	100	0

En los subgrupos ATM+Vac- a partir de las 3 semanas de vida los valores de ELISA comienzan a declinar, observándose en el último muestreo del grupo 1 (día 45), que a los 52 días de edad, ya todos los sueros fueron negativos. La técnica de ELISA no detectó animales positivos a los 15 días posvacunación en ninguno de los 3 grupos en animales ATM.

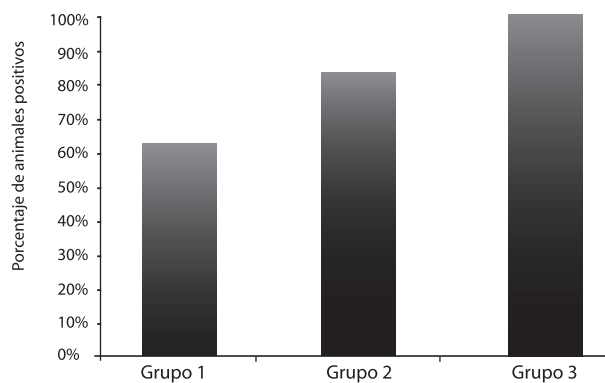


Figura 1: Porcentaje de animales positivos ATM- según fueron vacunados a los 7, 21 y 56 días de vida.

Discusión

La vacunación de lechones contra la PPC juega un papel importante en la protección de los animales

contra la infección del VPPC, pero tanto la presencia de inmunidad pasiva como la edad de los animales pueden influir para lograr los resultados esperados.

Los tres subgrupos que fueron vacunados sin inmunidad pasiva tuvieron una marcada seroconversión. La respuesta serológica observada en los lechones sin inmunidad pasiva manifiesta que son inmunocompetentes, tanto a los 7 como a los 21 días de edad, en coincidencia con lo expresado por otros autores como Precausta *et al.* (12) que encontraron los mismos resultados cuando destetaron y vacunaron a cerdos de 7 días de edad nacidos de madres no vacunadas. El nivel de Ac detectados durante el primer muestreo en los animales ATM+, en los grupos 1 y 2, nos permite inferir que hubo una buena transferencia de Ac desde las madres y que esta inmunidad pasiva era mayor a la edad de 7 que a los 21 días de edad. Pero si observamos los subgrupos de ATM+Vac+ y ATM+Vac-, no hay diferencias significativas entre los valores de ELISA, en ambos grupos los valores disminuyen hacia el final de la prueba, por lo tanto no se detecta seroconversión en los ATM+Vac+. Sin embargo, difieren en cuanto al número de positivos, aunque no se pueden diferenciar si son Ac pasivos

o generados por inmunidad activa, estos Ac podrían provenir de una respuesta a la vacuna ya que la inmunidad pasiva a los 52 días de edad no se detecta.

Lo anterior sugiere resultados similares a los encontrados por Vandeputte *et al.* (18), quienes demostraron que lechones vacunados en presencia de inmunidad pasiva y posteriormente inoculados con una cepa virulenta de PPC a las 10 semanas de edad, el 82% de los lechones murieron, por lo tanto el 18% restante podrían haber sido estos animales que respondieron a la vacuna. En nuestro trabajo el porcentaje de animales positivos al último muestreo fue del 25 y 14%, según si fueron vacunados a los 7 o 21 días de edad, aunque si este número de animales respondieron serológicamente a la vacuna, estos resultados no se igualan a los valores obtenidos en los animales vacunados sin inmunidad pasiva, ya que hay diferencias significativas en cuanto a concentración de Ac y en cuanto al número de positivos (63 y 83% para los grupos 1 y 2, respectivamente).

Por lo tanto, de acuerdo con lo expresado por otros autores, la vacunación efectuada en presencia de Ac pasivos suprime fuertemente la respuesta inmune activa. Corthier y Charley (5), compararon la respuesta inmune primaria en lechones nacidos de madres inmunizadas a los 55 y 85 días antes del parto y que fueron vacunados en presencia de inmunidad pasiva, observaron que hubo un intenso efecto inmunosupresivo en los lechones de las madres vacunadas a los 55 días preparto y que fue moderado en las vacunadas a los 85 días preparto. Suradhat y Damrongwatanapokin (15) vacunaron cerdos con inmunidad pasiva, a las dos semanas los inocularon con VPPC y midieron las células secretorias de γ interferón específico del VPPC, observando que tanto la inmunidad celular como la humoral estaban inhibidas. Por consiguiente, los animales vacunados en presencia de inmunidad pasiva responden en forma insuficiente a la vacunación cuando se mide la respuesta por ELISA.

Como se expresó anteriormente, los grupos que fueron vacunados sin inmunidad pasiva tuvieron una marcada seroconversión, demostrando que

son inmunocompetentes a los 7 días de edad. Pero, si se compara los 3 subgrupos de animales vacunados sin inmunidad pasiva, los inmunizados a los 56 días de edad demuestran mayor concentración de anticuerpos y mayor número de positivos, lográndose el 100% de los animales reaccionantes al final del ensayo. El lechón nace con el sistema inmune capacitado para dar respuesta pero no funcionalmente desarrollado, por lo que necesita varias semanas para su completa maduración (13).

Con respecto a la duración de la inmunidad pasiva, los Ac calostrales a los 52 días de edad ya no fueron detectados en el grupo 1, este resultado es acorde a lo expresado por otros autores (11, 18). Ambrogi *et al.* (1), encontraron un 10% de animales con inmunidad pasiva a los 42 días de edad mientras que a los 55 días ya eran todos negativos, esto permite suponer que el test de ELISA usado aquí ofrece los mismos resultados que los obtenidos con Ceditest CTB-ELISA modificado, del ID-DLO (Lelystad) y la seroneutralización (1, 7,18).

La detección de Ac vacunales de los animales sin inmunidad pasiva no fue posible a los 15 días posteriores a la vacunación para ninguno de los subgrupos, a diferencia de algunos autores que detectaron Ac alrededor de los 14-18 días posinfección (4, 9, 17). La serología demostró ser poco útil en detectar enfermos durante la presentación de cuadros clínicos (8) y también para detectar una epidemia utilizando una vigilancia serológica de rutina (6).

Por lo tanto, esta técnica de ELISA se muestra como poco eficaz para la detección temprana de Ac, este dato es importante porque la serología es utilizada de rutina en programas de control y erradicación de la PPC donde una detección precoz permitiría tomar medidas inmediatas. Sería importante investigar, a través de la descarga de cepa de campo del VPPC en animales con interferencia, si estos están o no protegidos contra estas cepas y cuál es el comportamiento patológico de las mismas.

Referencias

1. Ambrogi A, Busso JJ, Pelliza BR, Carranza A. Duración de la inmunidad pasiva en peste porcina clásica en lechones de madres vacunadas en sistemas al aire libre. Memorias del VII Congreso Latinoamericano de Veterinarios Especialistas en Cerdos; Río Cuarto; 1997; 69.
2. Blaha T. Epidemiología especial veterinaria. Zaragoza: Acribia; 1995. p11.
3. Bouma A, De Smit AJ, De Jong MCM, De Kruijver EP, Moormann RM. Determination of the onset of the herd-immunity induced by the E2 sub-unit vaccine against classical swine fever virus. *Vaccine* 2000; 18:1374-1381.
4. Colijn EO, Bloemraad M, Wensvoort G. An improved ELISA for detection of serum antibodies directed against classical swine fever virus. *Vet Microbiol* 1997; 59:15-25.
5. Corthier G, Charley B. Influence of colostral antibodies on pig immunization against hog cholera virus. *Ann Rech Vet* 1978; 9:245-253.
6. Crauwels AP, Nielen M, Stegeman JA, Elbers AR, Dijkhuizen AA, *et al.* The effectiveness of routine serological surveillance: case study of the 1997 epidemic of classical swine fever in The Netherlands. *Rev Sci Tech* 1999; 18:627-637.
7. Dewulf J, Koenen F, Mintiens K, Denis P, Ribbens S, *et al.* Analytical performance of several classical swine fever laboratory diagnostic techniques on live animals for detection of infection. *J Virol Methods* 2004; 119:137-143.
8. Gregg D. Update on classical swine fever (hog cholera). *J Swine Health Prod* 2002; 10:33-37.
9. Laevens H, Koenen F, Deluyker H, Berkvens D, De Kruijver A. Experimental infection with classical swine fever virus in weaner pigs: transmission of the virus, course of the disease and antibody response. *Vet Quarterly* 1998; 20:41-45.
10. Martins da Rocha CW. Situação atual da defesa sanitária no Brasil. Memoria de XII Congresso da Abraves, Fortaleza, Brasil 2005; 249-256.
11. Moennig V. Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy. *Vet Microbiol* 2000; 73:93-102.
12. Precastra P, Kato F, Brun A. Swine fever. Immunisation of piglets. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1983; 6:281-289.
13. Rooke JA, Bland IM. The acquisition of passive immunity in the new-born piglet. *Liv Prod Sci* 2002; 78:13-23.
14. Rooke JA, Carranca C, Bland IM, Sinclair AG, Ewen M, *et al.* Relationships between passive absorption of immunoglobulin G by the piglet and plasma concentrations of immunoglobulin G at weaning. *Liv Prod Sci* 2003; 81:223-234.
15. Suradhat S, Damrongwatanapokin S. The influence of maternal immunity on the efficacy of a classical swine fever vaccine against classical swine fever virus, genogroup 2.2, infection. *Vet Microbiol* 2003; 92:187-194.
16. Suradhat S, Damrongwatanapokin S, Thanawongnuwech R. Factors critical for successful vaccination against classical swine fever in endemic areas. *Vet Microbiol* 2007; 119:1-9.
17. Terpstra C, de Smit AJ. The 1997/1998 epizootic of swine fever in the Netherlands: control strategies under a non-vaccination regimen. *Vet Microbiol* 2000; 77:3-15.
18. Vandeputte J, Too HL, Ng FK, Chen C, Chai KK, *et al.* Adsorption of colostral antibodies against classical swine fever, persistence of maternal antibodies, and effect on response to vaccination in baby pigs. *Am J Vet Res* 2001; 62:1805-1811.
19. Van Oirschot JT. Peste Porcina Clásica. En: Enfermedades de los cerdos. 8ª ed. Bogotá: InterMédica; 1999. p.193-204.
20. Van Oirschot JT. Vaccinology of classical swine fever: from lab to field. *Vet Microbiol* 2003; 96:367-384.