

EVALUACION DE UNA VACUNA EXPERIMENTAL CONTRA OJO AZUL EN CERDOS MEDIANTE LAS PRUEBAS DE INMUNOGENICIDAD, INOCUIDAD, POTENCIA Y MEDICION DE LA INMUNIDAD PASIVA EN LECHONES

Fuentes, R. J.M.*; Gay, G. M.**; Herradora, L. M.A.***; Retana, A.****; Carreón, N. R.*** y Ramírez, M. H.***

*Rancho Covadonga S.A. Km. 61.5 Carretera México-Cuautla. Amecameca, Edo. Mex.

** Avimex, S. A. de C. V.

*** Depto. Producción Animal: Cerdos Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM Coyoacán, D.F. 04510.

**** Depto. Virología e Inmunología. Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM Coyoacán, D.F. 04510

INTRODUCCION: La enfermedad del Ojo Azul (OA) es producto de la infección por un Paramyxovirus y debido a la falta de métodos terapéuticos en contra de esta y otras enfermedades virales, la prevención ha llegado a ser uno de los principales métodos de control. En un futuro el disponer de una vacuna contra esta enfermedad, sera sin duda una importante medida de control resultando imperante contar con una vacuna que permita el control de esta enfermedad; que en un principio debiera ser de tipo inactivada ya que la producción de vacunas atenuada implica llevar a cabo previamente un gran número de complejas investigaciones de largo plazo que certifiquen su inocuidad (2,5).

OBJETIVOS: Se determinaron los niveles de IGS contra el POA mediante la prueba de sueroneutralización (SN) en el suero de cerdos destetados y vacunados contra OA, en los calostros de cerdas vacunadas y en el suero de sus lechones a los 4, 28 y 38 días de edad. Se comprobó la ausencia de signos clínicos atribuibles a la vacunación y se evaluó la protección conferida a los lechones a través del calostro mediante la exposición a una cepa virulenta del POA además de un análisis comparativo con la prueba de transferencia de inmunidad pasiva en lechones.

MATERIAL Y METODOS: Prueba de Inmunogenicidad e Inocuidad: Para la realización de esta prueba, se utilizó una vacuna inactivada elaborada con Paramyxovirus de Ojo Azul cepa 1987 (POA-87) en cultivos celulares de origen porcino, con un título de $10^{6.5}$ DICC 50%/ml inactivada con b propiolactona estabilizada y absorbida con gel de hidróxido de aluminio como adyuvante; 10 cerdos híbridos y 6 cerdas gestantes. e los 10 cerdos 5 fueron vacunados a la 6 semana de edad con 3 ml por vía subcutánea (SC) post-auricular, después de 15 días se llevo a cabo la revacunación siguiéndose el mismo esquema en cuanto a dosis y vía de inoculación; los cerdos vacunados como los no vacunados se mantuvieron en contacto durante el tiempo de estudio. Se registraron las temperaturas de los 10 cerdos dando inicio 3 horas antes de la primera vacunación, 3 horas después y diariamente durante 10 días. El mismo procedimiento se siguió cuando se aplicó la segunda dosis de vacuna. La observación clínica de los 10 cerdos se hizo durante los 10 días posteriores a la primera y segunda inmunización, estos animales fueron sangrados antes de la primera vacunación, antes de la segunda y 15 días después posteriormente durante cada mes hasta que alcanzaron su peso para el abasto. Finalmente se realizó una prueba intradérmica (ID) 6 meses después de la primera vacunación, por vía intradérmica aplicando una dosis de 0.3 ml de POA 87 purificado en el pliegue posterior de la oreja. Por

otra parte las cerdas gestantes fueron vacunadas a las 4 y 2 semanas antes del parto con 5 ml por vía SC post-auricular, se tomaron muestras de suero antes de la primera y segunda inmunización y al momento del parto una muestra de calostro, además se analizaron los parámetros reproductivos de las cerdas antes y después de la vacunación, los lechones de estas hembras fueron sangrados a los 4, 28 y 38 días de edad.

Prueba de Potencia. Se utilizaron 2 cerdas híbridas, una de las cerdas se inmunizó a las 4 y 2 semanas antes de parto aplicando 5.0 ml por vía SC post-auricular. Se obtuvieron muestras de sangre antes de la primera y segunda vacunación y un día antes del parto. Los lechones de las 2 camadas fueron desafiados al cuarto día de nacidos con la aplicación de 0.5 ml por vía intratraqueal y 1.5 ml por vía intranasal del POA de la cepa producción animal: Cerdos 1992 (PACLV-92) con un título de 10^{4.5} DICC 50% ml. La observación clínica fue durante los 10 días posteriores al desafío, los lechones que manifestaron signos nerviosos se sacrificaron y a la necropsia se obtuvieron muestras de encéfalo, pulmón y tonsila para realizarles estudios de histopatología, aislamiento viral e inmunofluorescencia directa. con todos los sueros y calostros se realizó la prueba de SN en microplacas de 96 pozos para cultivo celular de acuerdo a las técnicas descritas por Hsiung y Gay (3,4).

RESULTADOS: La prueba de inmunogenicidad e inocuidad en los 10 cerdos destetados señaló la presencia de Igs contra POA después de la primera y segunda inmunización y posteriormente en los muestreos mensuales; hubo un decremento progresivo y los títulos variaron de 1:8 hasta 1:64. Los cerdos en contacto no vacunados no presentaron anticuerpos en ninguno de los muestreos y el registro de temperaturas de todos los cerdos no señalaron variación significativa. Los resultados de la prueba intradérmica indicaron que 3 de los 7 cerdos vacunados manifestaron inflamación en la zona de inoculación del POA. La prueba de SN realizada con los sueros y calostros de las 6 hembras, señalaron una respuesta inmune debido a la presencia de títulos de anticuerpos en el suero, en un rango de 1:4 hasta 1:6 después de la primera aplicación y en el calostro de 1:16 a 1:64 posterior a la segunda.

En la prueba de potencia, 2 de los lechones de la hembra 190 que fue vacunada, tuvieron un título de Igs de 1:4 y murieron, con signos de OA a los 10 días post-desafío, 2 más con títulos de 1:8 y 3 con títulos de 1:16 sobrevivieron a la infección con la cepa PACLV1-92, dando como resultado una protección del 71.4%

DISCUSION: La prueba de potencia indicó que la vacuna inactivada contra el POA confirmó una protección del 71.4% que de acuerdo a lo establecido por la SARH queda por debajo de los límites establecidos para el caso de vacunas con virus inactivado. Sin embargo es importante tomar en cuenta algunos puntos que pudieron afectar para que no se alcanzara el 80% de protección: el número de animales en la prueba es muy reducido, la cepa de desafío utilizada es altamente virulenta y se desconoce la dosis letal cerdo 50%, instalaciones inapropiadas y la toma de temperatura 3 veces al día después del desafío fue un manejo que causó estrés en los lechones y en la madre lo que pudo probablemente causar inmunodepresión (1). También es relevante hacer notar que 2 de los lechones de la hembra vacunada con títulos de Igs de 1:4 murieron 10 días después del desafío, otros dos con títulos de 1:8 y 3 con títulos de 1:16 sobrevivieron, mientras que los controles

de la hembra no vacunada murieron a los 3 y 6 días postdesafío. El diagnóstico histopatológico, las pruebas de inmunofluorescencia y los aislamientos virales confirman que los lechones murieron a causa de la infección con el POA. Este estudio indica que los lechones con títulos de anticuerpos iguales o mayores a 1:16 tienen una protección cercana a 100% por lo tanto al relacionar la prueba de potencia con la transferencia de inmunidad pasiva se observó que el título promedio de anticuerpos contra el POA fue mayor a 1:16 (1:18.7, 4.6 log base 2). Estos resultados indican que esta vacuna es capaz de conferir una protección mayor al 80% en lechones que reciben inmunidad a través del calostro de madres vacunadas. En cuanto al análisis de la duración de la inmunidad pasiva en lechones este señaló que los niveles de Igs disminuyen en un 85% a los 28 días y desaparecen totalmente a los 38, sería recomendable aplicar la vacuna a las hembras a los 4 y 2 semanas antes de parto y a los lechones al destete.

Por otra parte la prueba realizada a los 10 cerdos destetados demuestra que la vacuna inactivada contra el POA resultó totalmente inocua y produjo una respuesta inmune equiparable a lo observado en las hembras gestantes con una media de anticuerpos mayor a 1:16, que de acuerdo a lo discutido anteriormente son niveles de Igs adecuadas para inducir una protección mayor al 80%. La inocuidad de la vacuna se confirma con el análisis de los parámetros productivos realizado a las 6 hembras gestantes, en donde no se observó ningún cambio atribuible a la aplicación de la vacuna.

Por lo anterior, consideramos que la vacuna inactivada contra el POA en cerdos, es adecuada para su empleo en el control de esta enfermedad dadas sus características de inmunogenicidad e inocuidad.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Barbosa, H.: El cerdo en la investigación biomédica: Inmunidad intestinal pasiva y producción de antisueros. Avances en enfermedades del cerdo. AMVEC México, D.F.
- 2.- Carreón, N.R.: Frecuencia de anticuerpos contra el Paramyxovirus del Ojo Azul en cerdos del altiplano y norte de México. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM. México, D.F. 1989.
- 3.- Gay, G.M.: Implementación de la prueba de ELISA, para el serodiagnóstico de ojo azul en cerdos. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM. México, D.F. 1989.
- 4.- Hsiung, G.D. and Henderson, J.R.: Diagnostic virology. New Haven and London Yale University Press. 1964.
- 6.- Stephano, H. A., Gay, G.M.: Síndrome del Ojo Azul en cerdos. Síntesis Porcina 5:14-24 (1986)