

RESPUESTA SEROLÓGICA POR LA PRUEBA DE ELISA EN CERDOS SPF, VACUNADOS CON UNA VACUNA VIVA MODIFICADA CONTRA PRRS Y DESAFIADOS CON UNA CEPA NACIONAL DEL VIRUS DE PRRS. Parte III.

Weimersheimer RJE^{1*}, González SD¹, Correa GP¹, Coba AMA¹, Martínez LA¹, Lara PJH², Estrada DEF², Hernández J², Torres BJ¹, Castillo VN, López HMA, Ortega SR³, Alvarez GA. ¹Cenid-Microbiología, INIFAP, Carr. Méx. Toluca, Km. 15.5, Col. Palo Alto, Cuajimalpa, DF., CP.05110; ²Boehringer Ingelheim Vetmedica, ³UMSNH. Correo electrónico: jlara@qua.boehringer-ingelheim.com

Introducción. El síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo (PRRS) actualmente tiene una gran importancia económica considerándose como una de las enfermedades que producen mayores problemas en la porcicultura mundial. Esta enfermedad fue diagnosticada por primera vez en 1987 en EUA, y en 1990 en Europa, siendo de Alemania el primer reporte. Posteriormente, en los años 90s se comprobó su presencia en Latinoamérica. Las pérdidas económicas se deben a la baja de peso por problemas respiratorios en lechones y problemas reproductivos en las cerdas. La transmisión generalmente es por contacto directo, participando en forma importante la movilización de cerdos, ya que por el contacto entre animales positivos y negativos es su mayor difusión. Este es un virus RNA de la familia *Arteriviridae*, género *arterivirus*, y que se cultiva en líneas celulares o macrófagos alveolares de pulmón de cerdo. La infección de PRRS se ha encontrado produciendo la enfermedad por sí sola (ciertos serotipos), o asociado a diferentes agentes virales y bacterianos, participando como un agente inmunosupresor. El virus facilita la presencia de enfermedades virales como la enfermedad de Aujeszky, Influenza porcina, coronavirus respiratorio, circo virus porcino, etc. Entre los principales agentes bacterianos que participan con PRRS, causando problemas respiratorios graves se encuentran: *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*; y secundarios como *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus suis* y otros. También hay factores del medio ambiente y manejo que favorecen la presentación de la enfermedad, tales como: el estrés por hacinamiento de animales; mala calidad del aire; temperatura; juntar animales de diferentes granjas; sistemas de producción; y el estado inmunitario de los cerdos.

Objetivo. Evaluar la respuesta serológica, mediante la prueba de ELISA en cerdos SPF, vacunados con la vacuna viva Ingelvac® PRRS MLV y desafiados con una cepa nacional del virus de PRRS (BIV00PRRS26M), bajo condiciones controladas.

Material y Método. Se utilizaron 5 grupos de 18 lechones SPF, con las mismas características de raza, procedencia y edad. Dependiendo del grupo se adicionaron 5 lechones centinelas, para evaluar la posible diseminación del virus vacunal y/o del virus de desafío. Los grupos fueron instalados en unidades de aislamiento y quedaron de la siguiente forma:

GRUPO	No. de Animales	Vacunación	Desafío
Control negativo	18	NO	NO
Control positivo	18	NO	SI
Vacunado/no desafiado	18	SI	NO
Vacunado/desafiado	18	SI	SI

Diluyente	18	NO	SI
Centinelas postvacunación grupo Vacunado/no desafiado	5	NA	NA
Centinelas postvacunación grupo Vacunado/desafiado	5	NA	NA
Centinelas postdesafío grupo Control positivo	5	NA	NA
Centinelas postdesafío grupo Vacunado/no desafiado	5	NA	NA
Centinelas postdesafío grupo Vacunado/desafiado	5	NA	NA

La vacunación fue realizada con la vacuna Ingelvac® PRRS MLV, lote número JA-732A-470 a la dosis de 2ml, vía intramuscular, por cerdo. El desafío se hizo en una cámara de nebulización, con una dosis $1 \times 10^{4.0}$ DICC/ml/3.0 ml /cerdo x 40 min., con el aislado nacional del virus de PRRS (BIV00PRRS26M).

Flujograma: Día -7 llegada de animales (todos); día 0 vacunación grupos: (Diluyente, vacunado/nd, vacunado/d) ; día 1 ingreso de los centinelas postvacunación (Vacunado/nd, vacunado/d); día 28 sacrificio de centinelas postvacunación; día 29 desafío (diluyente, control positivo, vacunado/d); día 31 ingreso centinelas postdesafío (vacunados/nd, vacunados/d, control positivo); día 49 sacrificio (todos); días - 7,2,4,7,14,21,28,31,36,43 y 49 toma de muestras sanguíneas. En relación a este calendario se tomaron las muestras de sangre para correr las pruebas ELISA, así como para medir otros parámetros.

Resultados. Los cerdos del Grupo Control negativo no presentaron signos clínicos; no desarrollaron Anticuerpos (Acs) detectables por la prueba de ELISA. Del Grupo Control positivo (no vacunado, pero sí desafiado), antes del desafío permaneció negativo; después del desafío desarrollaron anticuerpos detectables; después del desafío se pusieron en contacto con cerdos centinelas de la 2ª fase, los cuales presentaron signos clínicos y desarrollaron anticuerpos detectables por la prueba de ELISA. Esto significa que el virus de PRRS de campo utilizado, sí se diseminó de los desafiados a los centinelas susceptibles que fueron puestos en contacto. Grupo que recibió diluyente (no vacunado y sí desafiado) los cuales no fueron vacunados y al recibir el diluyente no manifestaron signos clínicos ni desarrollaron anticuerpos; lo cual indica que el diluyente no contenía virus de PRRS, ni otros agentes patógenos ni pirógenos ya que no hubo elevación de la temperatura de los animales; después del desafío se detectó la presencia de anticuerpos por la prueba de ELISA. Los animales del Grupo vacunado y no desafiado desarrollaron anticuerpos, detectados a partir del día 14 postvacunación y estos títulos fueron incrementándose paulatinamente hasta el final del experimento (49 días); la detección del antígeno viral fue positiva. Los cerdos centinelas de la 1ª fase (postvacunación) permanecieron negativos (28 días) y no hubo detección del antígeno

viral. Después del desafío, los centinelas de la 2ª fase, también permanecieron normales (día 31 al 49) y tampoco presentaron Acs detectables contra PRRS. Esto nos refleja que la vacuna produjo viremia pero no se diseminó; pero sí estimuló la producción de Acs contra PRRS. El Grupo vacunado y desafiado presentó seroconversión detectable a los 14 días postvacunación; y la detección del antígeno viral fue posible tanto después de la vacunación como después del desafío. El período virémico fue menor en la etapa postdesafío, que en los grupos desafiados no vacunados. Los valores S/P de los Acs ELISA, estimulados desde la fase postvacunal después de la exposición mostraron un efecto "booster", el cual continuó en aumento hasta el final del experimento. Los centinelas postvacunación, no presentaron signos clínicos ni fiebre, y no se estimuló la producción de Acs, ni se detectó el antígeno viral; se puede concluir que el virus vacunal no se diseminó, en este experimento. Los centinelas postdesafío, después de estar en contacto con su grupo recién desafiado, desarrollaron anticuerpos contra PRRS indicando una clara evidencia de viremia causada por el virus de desafío. La vacuna no evitó la diseminación del virus de campo utilizado en el desafío. Los cerdos, a pesar de estar vacunados, diseminaron el virus virulento a los centinelas ya que presentaron y el cuadro clínico de la enfermedad y seroconvirtieron. Todo los resultados fueron valorados estadísticamente siguiendo un análisis de modelos lineales generalizados mediante un diseño completamente al azar.

Implicaciones. La vacuna protegió a los cerdos SPF vacunados contra la presentación de la enfermedad, sin embargo, no evitó la diseminación del virus de campo puesto que los centinelas después del desafío presentaron anticuerpos estimulados por el virus de desafío. La vacuna fue 100% segura, mostró una buena antigenicidad y protegió un 100% ante el desafío con la cepa nacional (BIV00PRRS26M). Para validar estos resultados, se sugiere realizar las pruebas de campo en granjas porcinas con diferentes condiciones sanitarias.

Bibliografía.

Disease of swine. 8th Edition. Benfield DA, Collins JE, et al. 1999. Chapter 18. P.209-211.