

# Proteínas de fase aguda en lechones predestete inmunizados con dos vacunas comerciales de PCV2

I. Hernández-Caravaca<sup>1</sup>, D. Escribano<sup>2</sup>, S. Figueras Gourgues<sup>1</sup>, V. Rodríguez-Vega<sup>1</sup>, J. Cerón<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim España S.A., Spain;

<sup>2</sup>Interdisciplinary Laboratory of Clinical Analysis, Interlab-UMU, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, Spain

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es endémico en los principales países productores de porcino y la tasa de vacunación ronda el 100 % en muchos mercados de esta especie. Se ha sugerido que las proteínas de fase aguda (APP, por sus siglas en inglés) pueden actuar como biomarcadores veterinarios para controlar el estrés<sup>1</sup>, detectar inflamaciones e infecciones, así como para monitorizar ciertas enfermedades<sup>2,3</sup>. Además, la proteína C reactiva (CRP, por sus siglas en inglés) también ha sido propuesta recientemente como un potencial biomarcador en estudios de seguridad vacunal<sup>6</sup>. El objetivo de este estudio fue evaluar la evolución de la haptoglobina (Hp) y la CRP después de inmuni-

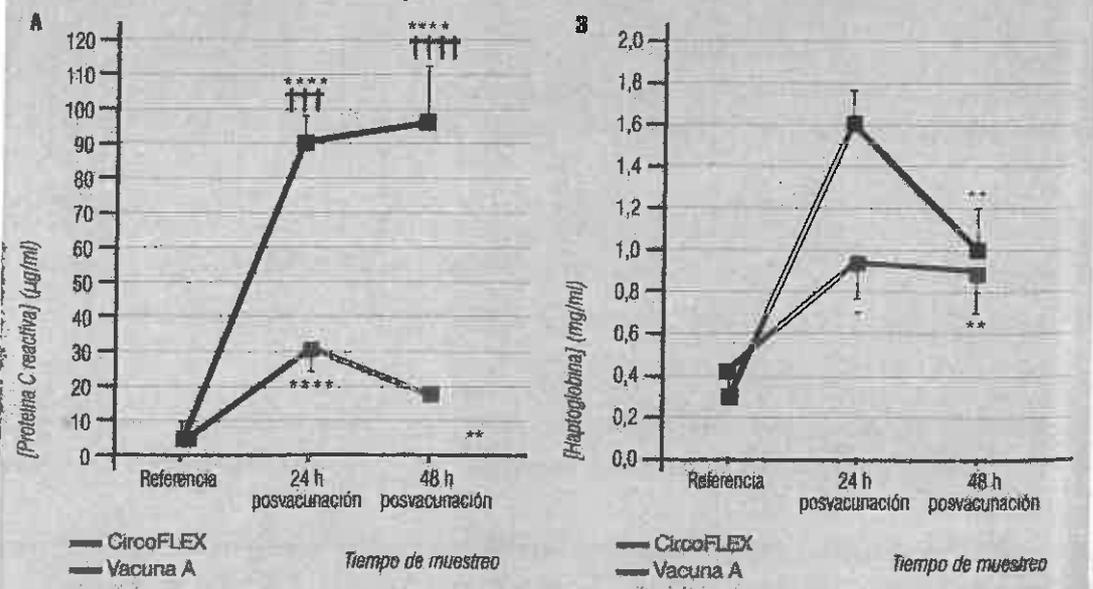
zar lechones predestete con dos vacunas de PCV2 disponibles comercialmente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en una granja de 2.000 cerdas localizadas en el sureste de España. Se vacunaron dos grupos de 16 lechones (un macho y una hembra de cada una de las ocho camadas por grupo), tres días antes del destete (22 días de edad), con una inyección (1 ml) de Ingelvac CircoFLEX (Boehringer Ingelheim, Spain, SA) o con una inyección de vacuna A (2 ml). Se tomaron muestras sanguíneas y se anotó el peso de cada animal antes de la vacunación (niveles de referencia, figura 1), 24 y 48 horas posvacunación. Además, se registró la temperatura rectal antes y 8 horas después de la inmunización y se determinaron las concentraciones de Hp y CRP en suero utilizando un analizador bioquímico automático (Olympus 2700 automatic chemistry analyzer, Germany). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando un GraphPad Prism 6 (Graph Pad, Software, USA) y se realizó un test ANOVA, con un valor  $p < 0,05$  como nivel de significación.

Figura 1. Concentraciones de proteína C reactiva (CRP) y haptoglobina (HP) sérica en lechones vacunados con Ingelvac CircoFLEX o con vacuna A antes de la vacunación, 24 y 48 horas posvacunación.

Las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en un grupo de tratamiento en comparación con el valor de referencia están indicadas por \*, mientras que las diferencias estadísticamente significativas entre grupos de tratamiento ( $p < 0,5$ ) están indicadas por †



Boehringer Ingelheim

## RESULTADOS

Para ambos grupos de tratamiento, los niveles de proteína C reactiva (*figura 1a*) y haptoglobina (*figura 1b*) fueron significativamente superiores a las 24 y 48 horas posvacunación cuando se compararon con los valores de referencia antes de la vacunación. El incremento fue significativamente mayor en el grupo de lechones vacunados con vacuna A. Después de 24 horas posvacunación, las concentraciones de Hp fueron más elevadas en animales vacunados con vacuna A que en animales vacunados con CircoFLEX (un 40 %). De manera similar, las concentraciones de CRP fueron también mayores en animales vacunados con vacuna A (un 66 y un 85 % a las 24 y 48 horas posvacunación, respectivamente). Ocho horas posinmunización, la temperatura rectal fue significativamente más elevada en animales vacunados con vacuna A (40,2 °C) en comparación con los animales vacunados con Ingelvac CircoFLEX (39,8 °C) ( $p < 0,05$ ). La ganancia media de peso durante el periodo de 24 horas posvacunación fue significativamente mayor en animales vacunados con Ingelvac CircoFLEX (100 g) en comparación con los animales vacunados con vacuna A (0,06 g) ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como muestran los resultados, la inmunización con ambas vacunas aumentó significativamente las concentraciones de APP en comparación con los niveles de referencia. Sin embargo, la producción de APP, y principalmente de la CRP, fue más elevada y más persistente en animales vacunados con vacuna A que con CircoFLEX. Esta respuesta más pronunciada en los niveles de APP (biomarcadores de estrés e inflamación) después de la vacunación puede explicar las diferencias en la temperatura rectal, la ganancia de peso y las reacciones locales entre animales vacunados con distintos productos, que se observaron en éste y otros estudios.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Murata H. (2007) *The Veterinary Journal* 173, 473–474.
2. Sorensen *et al.* (2006) *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113, 157–168.
3. Pomorska-Mól *et al.* 2013. *BMC Veterinary Research* 18, 9–14.
4. Destexhe *et al.* (2013) *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 68, 367–373.
5. Miyashita *et al.* 2014. 23<sup>rd</sup> International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress.
6. Hernández-Caravaca *et al.* (2013) Allen D. Leman Swine Conference.
7. Johnson *et al.* 2913. AASV 2013.

# Protocolo de muestreo para la detección de virus PRRS tipo 1 en vehículos de transporte de animales

I. Hernández-Caravaca<sup>1</sup>, S. Figueras Gourgues<sup>1</sup>,

V. Rodríguez-Vega<sup>1</sup>, J.P. Cano<sup>2</sup>, J. Angulo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim España S.A., Spain,

<sup>2</sup>PIC North America, USA, <sup>3</sup>Boehringer Ingelheim AH GmbH, Germany

El transporte de ganado es considerado como un riesgo externo de introducción del virus del PRRS (PRRSv) en las explotaciones porcinas. Además, se ha demostrado que los cerdos pueden infectarse cuando entran en contacto con vehículos de transporte contaminados<sup>1</sup>.

Algunos estudios han demostrado la eficacia de la desinfección y el secado térmico para eliminar el PRRSv de los vehículos de transporte<sup>2,3</sup>. Sin embargo, sólo hay un estudio sobre la detección del virus en los camiones de ganado antes y después de los procesos de desinfección y secado en una explota-

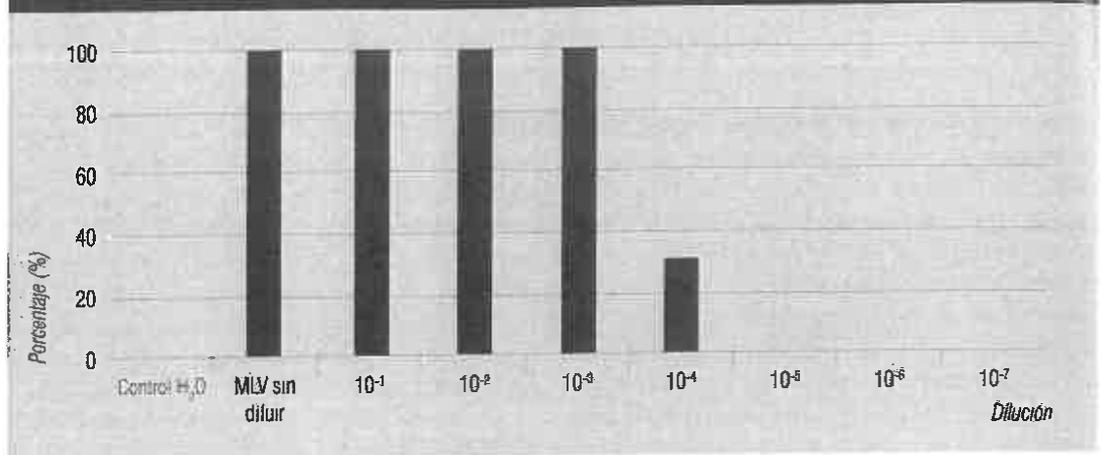
ción comercial<sup>4</sup>, pero este estudio se llevó a cabo bajo condiciones de Estados Unidos y se centró en el virus del tipo 2.

Considerando que en Europa es más prevalente el PRRSv genotipo 1, el objetivo de este estudio fue desarrollar una técnica con aplicación práctica para detectar este virus en vehículos de transporte. Además, se determinó el nivel de detección en el laboratorio diagnóstico para validar esta metodología.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue llevado a cabo en el sureste de España en marzo de 2014. El camión utilizado para asemejar las condiciones de campo tenía cuatro pisos con 56 compartimentos de 1,2 × 1,75 m cada uno. Este vehículo sólo había transportado lechones negativos a PRRSv. Se desinfectó dos veces y se

Figura 1. Porcentajes de PCR positivas para PRRSv en las distintas diluciones.



dejó secar durante un día antes del experimento. Se hicieron diluciones seriadas de una vacuna comercial viva modificada cuantificada tipo 1 (MLV) ( $10^{6.2}$  TCID<sub>50</sub>) utilizando agua MilliQ para generar 40 ml de cada dilución, desde muestras sin diluir hasta dilución  $10^{-7}$ .

Se aplicó cada dilución en un cuadrado de  $1 \times 1$  m preparado con cinta adhesiva sobre el suelo del camión. Se hicieron tres réplicas de cada dilución en diferentes pasillos del camión. Para quitarlas del suelo se utilizaron toallitas (SodiBox kits) que se exprimieron en tubos de 50 ml. Se recogieron, identificaron y refrigeraron un total de 27 muestras. Los tubos refrigerados se enviaron en 24 horas al BI-Veterinary Research Centre (BIVRC) de Hannover, Alemania, donde se sometieron a una prueba de PCR.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados de las PCR muestran la detección en el 100 % de los casos de la dilución  $10^{-3}$ . Esto significa, teniendo en cuenta el título de la MLV, que pudieron detectarse entre 0,1 y  $10^3$  TCID<sub>50</sub>. En

1 de las 3 réplicas se pudo detectar la dilución  $10^{-4}$ , es decir, entre 0,01 y  $10^2$  TCID<sub>50</sub>.

De acuerdo con la mínima dosis infectiva por vía oral, establecida en  $10^{-5.3}$  TCID<sub>50</sub> por Hermann *et al.*, se encontró incluso un nivel de PRRSv menor del necesario para infectar a un animal en condiciones de campo. Estos resultados confirman que la técnica está lista para implantarla en un escenario con predominancia de PRRSv tipo 1, y es una buena herramienta para las evaluaciones de los protocolos de descontaminación como parte de los programas de bioseguridad de las explotaciones, sistemas o incluso regiones.

Agradecimientos: Moya Livestock Transportation Company y Agroturía por su apoyo en este proyecto.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Dee S.A. *et al.* Can J Vet Res. 68:128-33, 2004a.
2. Dee S.A. *et al.* Can J Vet Res. 69:64-70. 2005a.
3. Dee S.A. *et al.* Can J Vet Res. 69:58-63. 2005b.
4. Cano *et al.* IPVS 2012 VO 251 pag 325.

## Reducción de la viremia del PCV2 en lechones neonatos por medio de la vacunación masiva de madres

J. Viñeta  
Agroturía S.A.

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) está asociado con varias enfermedades y síndromes, incluyendo el fallo reproductivo, que se engloban bajo el término enfermedad asociada al circovirus porcino (PCVAD)<sup>1</sup>. La infección en útero de lechones con

PCV2 puede ser una fuente potencial de transmisión vertical de PCV2 a la descendencia, lo que podría hacer a los lechones neonatos más susceptibles a las coinfecciones con otros patógenos y, de ahí que se asocie con PCVAD en el cebo<sup>2</sup>.

La vacunación de lechones frente a PCV2 se utiliza de forma rutinaria en la producción porcina global. Actualmente, todavía se discute la necesidad

de una vacunación adicional de las cerdas. Sí se ha demostrado que la vacunación de cerdas con Ingelvac CircoFLEX es segura<sup>3</sup>.

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de la viremia del PCV2 en lechones neonatos antes y después de la vacunación en masa de las madres.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en una granja comercial de 2.200 cerdas en tres fases en Cuenca, España. Los animales eran positivos a PRRS y a *M. hyo*. Los cerdos se destetaron y se vacunaron semanalmente con el programa vacunal FLEXcombo (1 ml de Ingelvac CircoFLEX + 1 ml de Ingelvac MycoFLEX mezclados y administrados en un único punto de inyección) a las tres semanas de vida. Se seleccionó la granja para esta prueba porque el PCV2 se detectó en lechones de cuatro semanas de vida. Sin embargo, las cerdas no sufrían los problemas obvios en términos de rendimiento reproductivo ni de síntomas clínicos o problemas de rendimiento durante la fase de transición. Para evaluar la prevalencia de PCV2 en lechones neonatos se obtuvieron muestras sanguíneas de 39 animales siguiendo el siguiente protocolo:

- 3 lechones/camada de 5 cerdas de 1-2 partos.
- 3 lechones/camada de 4 cerdas de 3-4 partos.
- 3 lechones/camada de 4 cerdas de ≥5 partos.

La recogida de muestras fue seguida por una vacunación en masa todas las cerdas con 1 ml de Ingelvac CircoFLEX. El muestreo se repitió dos meses después de la vacunación en masa, siguiendo el mismo protocolo.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS v.15 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor *p* era <0,05.

### RESULTADOS

En el primer muestreo correspondiente a lechones de cerdas no vacunadas, el virus PCV2 se detectó en el 43 % de las muestras, mientras que después de la vacunación de las madres sólo el 7,7 % de los lechones fueron positivos (*p*<0,001).

Si nos fijamos en los grupos por número de partos, los resultados muestran una reducción estadísticamente significativa de los lechones positivos a PCV2 en el grupo P1-2 (64,3 frente a 6,6 %) *p*<0,001 y el grupo P3-4 (28,6 frente a 0 %) *p*<0,05, y una diferencia numérica en el grupo *p*>5 (33 frente a 16 %) cuando se comparaban cerdos procedentes de cerdas no vacunadas y vacunadas (figura 1).

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Según los resultados obtenidos por PCR, puede concluirse que es posible reducir la prevalencia de PCV2 en lechones neonatos utilizando Ingelvac CircoFLEX en un protocolo de vacunación en masa de cerdas.

Es necesario llevar a cabo más estudios para determinar si existe una correlación entre prevalencia de PCV2 en lechones neonatos y parámetros productivos en transición y cebo.

Agradecimientos: Servicio técnico de Boehringer Ingelheim España por su apoyo y diagnóstico.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Madson D. M. and Opriessnig T. (2009) Proc. of 17<sup>th</sup> Swine Disease Conference for Practitioners. Pg. 931-01.
2. Ha Y., Lee Y.H., Ahn K.K., Kim B. and Chae C. (2008) Vet Pathol 45:842-8.
3. Yeonsu *et al.* Veterinary Microbiology 172 (2014) 371-380.

Figura 1. Porcentajes de lechones positivos a PCV2 por PCR en los distintos grupos por número de partos antes y después de la vacunación de cerdas para PCV2.

