

¿CÓMO ES LA RESPUESTA INMUNITARIA INNATA Y ADAPTATIVA QUE INDUCE SUVAXYN® PRRS MLV?

Suvaxyn® PRRS MLV es una nueva vacuna viva atenuada de virus PRRS tipo I que se diferencia de todas las demás vacunas disponibles en que su virus vacunal es atenuado en la línea celular BHK21 que expresa el receptor porcino CD163 y que es exclusiva de Zoetis.

Monica Balasch¹, Maria Fort¹, Lucas P. Taylor², Ivan Díaz³, Enric Mateu^{3,4} y Jay G. Calvert²

Immune response development after vaccination of 1-day-old naïve pigs with a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome 1-based modified live virus vaccine. *Porcine Health Manag.* 2019;5:2. Published 2019 Feb 2. doi:10.1186/s40813-018-0112-7

¹Zoetis Manufacturing & Research Spain SL, Ctra. Camprodon s/n, Finca La Riba, 17813, Vall de Bianya, Girona, España

²Zoetis Inc., 333 Portage St, Kalamazoo, MI 49007, EE. UU.

³UAB, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193. Bellaterra, Barcelona, España

⁴Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Facultat de Veterinària, UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona, España

⁵IRTA, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, España

Es bien conocido que la infección por el virus PRRS tiene un efecto inmunosupresor sobre el sistema inmunitario del cerdo e induce una lenta y débil respuesta inmunitaria innata^{1,2} y una respuesta inmunitaria adaptativa retrasada³⁻⁵.

El objetivo de este estudio ha sido valorar el desarrollo de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa frente al virus PRRS tras la vacunación de lechones de 1 día de vida con Suvaxyn® PRRS MLV y tras un desafío heterólogo con un virus campo virulento a las 18 semanas posvacunación.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se incluyeron 25 lechones nacidos de cerdas PRRSV seronegativas y se dividieron en 2 grupos:

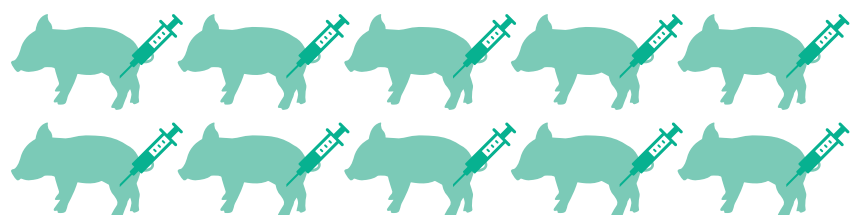
T01

5 lechones de 1 día de vida como grupo control.



T02

10 lechones de 1 día de vida que se vacunaron por vía intramuscular (IM).



YTNS9/shutterstock.com

Las muestras de sangre se tomaron los días 3, 7, 28, 56, 83, 113 y 125 y el día de desafío se estableció el día 126.

La sangre y los hisopos nasales se obtuvieron los días 129, 132, 134 y 136.

En el día 136 se practicó la eutanasia de los animales.

PARÁMETROS ANALIZADOS

- Nivel de viremia de PRRSV.
- Excreción nasal de PRRSV.
- Interleucina-10 (IL-10).
- Interleucina-8 (IL-8).
- Interferón Alfa (IFN- α).
- Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).
- Células secretoras de interferón gamma (IFN- γ).
- Anticuerpos Neutralizantes (NA).



Numstocker/shutterstock.com

RESULTADOS VIREMIA Y EXCRECIÓN NASAL

Tras el desafío todos los animales del lote control fueron virémicos, y se estableció el pico de viremia a los 3 días posdesafío.

La viremia fue detectada en **8 de los 10 lechones** y el pico de viremia fue también a los **3 días posdesafío**, pero la carga viral fue significativamente menor (2,0 log) que en los controles.

Al sacrificio, 9 de los 10 animales habían eliminado el virus campo de su sangre.

El porcentaje de cerdos **virémicos** a los 8 y 10 días posdesafío también fue significativamente **menor** en los cerdos **vacunados** respecto a los no vacunados. La **carga viral** en hisopos nasales y el porcentaje de animales **excretores** de virus PRRS también fue significativamente **menor** en los **vacunados** que en el grupo control.

*Los resultados de viremia y excreción nasal demuestran la **capacidad de la vacuna de proteger** a los animales de la **infección por PRRSV**.*

INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS

INTERLEUCINA 10 (IL-10)

La presencia de IL-10 se ha relacionado con una inhibición la respuesta inmunitaria frente al virus PRRS⁶ y se ha ligado a una menor respuesta de las células mediadoras y a la inhibición de la secreción de citoquinas beneficiosas como IFN- γ y TNF- α ⁷.

La casi ausencia de niveles detectables de IL-10 por el virus vacunal indica que la vacunación con Suvaxyn[®] PRRS MLV no induce ninguna respuesta significativa de IL-10 (figura 1).



krumanop/shutterstock.com

INTERLEUCINA 8 (IL-8)

La ausencia de inducción de esta interleucina proinflamatoria tras la vacunación está relacionada con el buen perfil de seguridad de la vacuna.

La presencia en la mayoría de los animales vacunados y no vacunados tras el desafío indica que la producción de IL-8 no se vio perjudicada por la vacunación (figura 2).

INTERFERÓN ALFA (IFN- α)

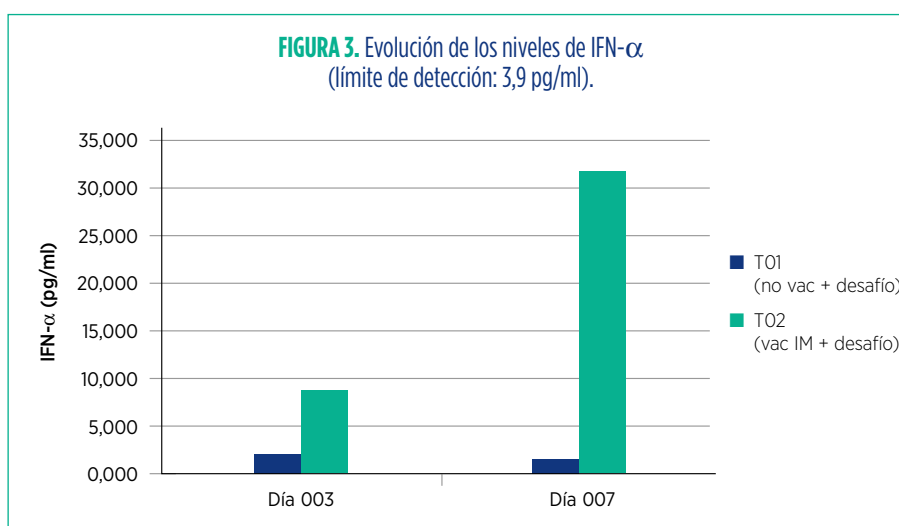
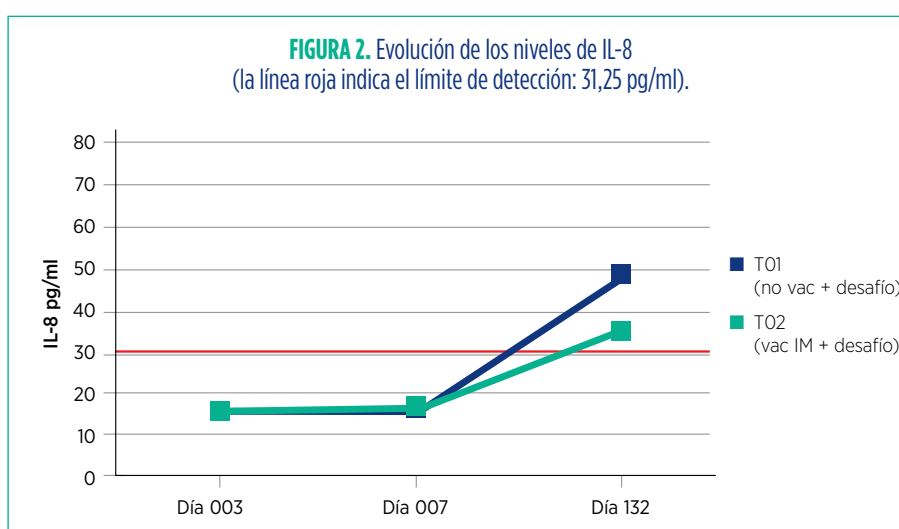
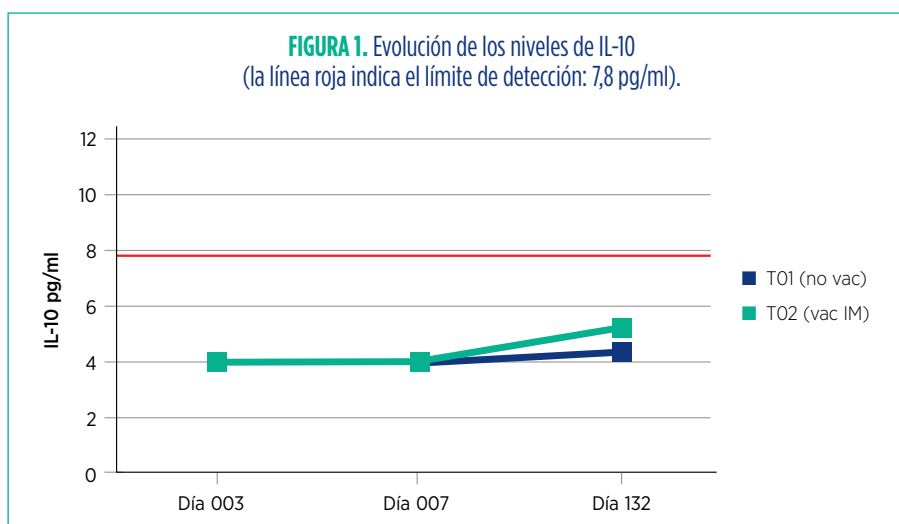
La inducción consistente y rápida de interferón alfa tras la vacunación es indicativo de una eficaz respuesta inmunitaria adaptativa como productora de células T helper tipo 1 (Th1).

En el estudio se detecta el IFN- α en todos los animales vacunados y sus valores aumentan entre los días 3 y 7 posvacunación, mientras que en el grupo control no vacunado permanecían más bajos (figura 3).

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (TNF- α)

El TNF- α es una citoquina proinflamatoria que se relaciona con una inflamación sistémica de fase aguda que puede producir fiebre, muerte celular por apoptosis, caquexia, inflamación y aumento de la replicación viral⁸.

Tras la vacunación con Suvaxyn[®] PRRS MLV, los niveles de TNF- α se encontraron siempre por debajo de los límites de detección en los animales antes del



desafío mientras que tras el desafío solo una minoría de animales produjo niveles detectables de TNF- α , lo que

confirma el efecto inhibitor del virus PRRS en la inducción de citoquinas proinflamatorias (figura 4).

CÉLULAS SECRETORAS DE INTERFERÓN GAMMA (IFN- γ)

El IFN- γ (interferón tipo II) es una citoquina proinmune que tiene la propiedad de inhibir directamente la replicación viral además de tener un efecto inmunomodulador. Niveles altos de IFN- γ se relacionan con la protección, aunque la respuesta del IFN- γ en cerdos infectados por el virus PRRS se presenta retrasada y más débil que en otras enfermedades víricas del ganado porcino⁹⁻¹⁰.

En el estudio se detectaron células secretoras de IFN- γ en todos los animales vacunados y aumentaron de forma continua entre los días 28 y 125 posvacunación. Además, permanecieron en valores altos tras el desafío, lo que confirma que la vacunación con Suvaxyn® PRRS MLV puede modular positivamente la expresión génica de IFN- γ y mantener la secreción de IFN- γ cuando las células secretoras son reestimuladas⁹. El número de IFN- γ SC en los animales no vacunados permaneció bajo (figura 5).

FIGURA 4. Evolución de los niveles de TNF- α (la línea roja indica el límite de detección: 62,5 pg/ml).

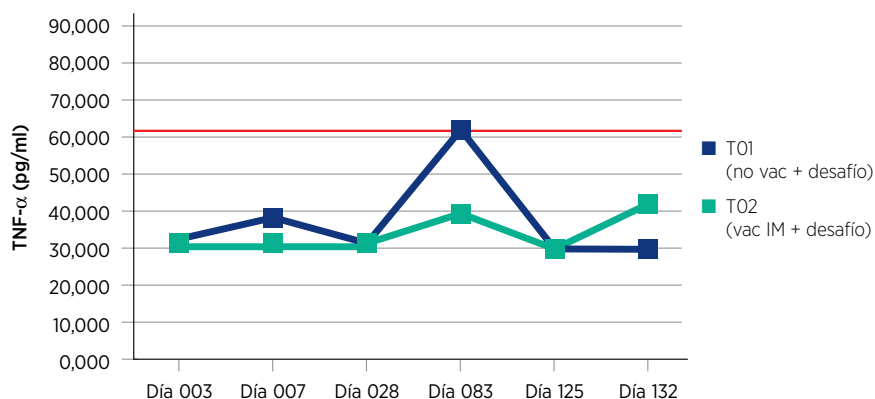
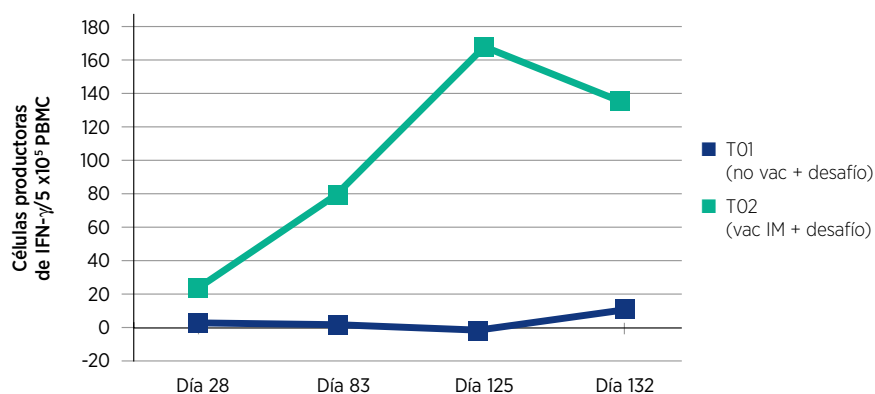
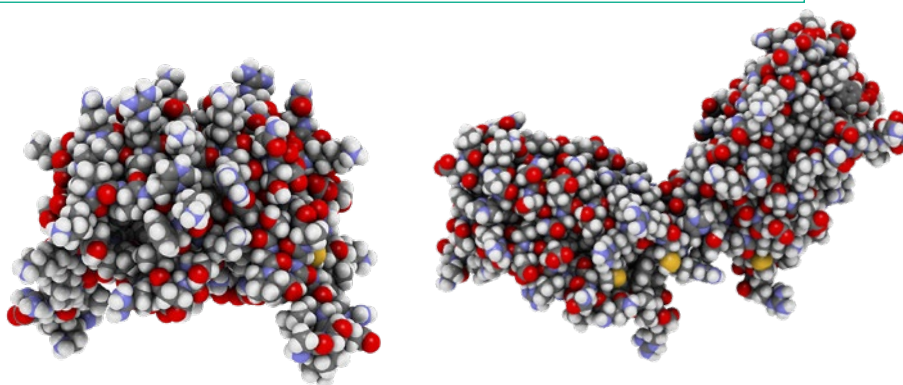


FIGURA 5. Evolución del número de células secretoras de IFN- γ , expresado como el número de células productoras de IFN- γ /5 x10⁵ PBMC.



Tsekhmister, molekuul_be/shutterstock.com



¿QUÉ CONFIRMAN ESTOS RESULTADOS?

- Tanto la respuesta inmunitaria innata como la adaptativa quedan claramente demostradas tras la vacunación por la producción de IFN- γ y por el desarrollo de células secretoras de IFN- γ .
- La práctica ausencia de las citoquinas proinflamatorias IL-10, IL-8 y TNF- α está en sintonía con la seguridad observada de la vacuna en los animales predestetados.

INMUNIDAD HUMORAL ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES

Los niveles de anticuerpos neutralizantes (NA) se detectaron por primera vez en el día 56 de los cerdos vacunados y se mantuvieron hasta el desafío. Tras el desafío se observó un efecto *booster* de los animales vacunados y ninguna reacción en los no vacunados.

Tan solo 10 días después del desafío, el 80 % de los animales vacunados (IM) habían eliminado prácticamente en su totalidad la viremia y tenían niveles detectables tanto de anticuerpos neutralizantes como de células secretoras de IFN- γ , lo cual confirma una consistente respuesta humoral y celular que contribuye a controlar la infección.

La protección frente al virus PRRS no se consigue únicamente con anticuerpos neutralizantes, sino que también es necesaria la participación de la inmunidad mediada por células³ y Suvaxyn® PRRS MLV ha demostrado ser capaz de conferir ambas.



Thuwanan Krueabuddaj/shutterstock.com

CONCLUSIÓN

- Suvaxyn® PRRS MLV aplicada el primer día de vida es capaz de **inducir una respuesta innata, humoral y celular** capaz de proteger a los animales de un desafío con virus campo.
- El virus vacunal de Suvaxyn® PRRS MLV **se replica activamente sin producir enfermedad** en las sema-

nas siguientes a la vacunación dando tiempo al sistema inmunitario del lechón neonatal a alcanzar un nivel mayor de madurez antes de eliminar el virus vacunal.

- Suvaxyn® PRRS MLV es capaz de inducir una **respuesta inmunitaria innata**, mediada por células, y **humoral** caracterizada por:
 - Niveles indetectables de **IL-10, IL-8 y TNF- α** .
 - Un incremento significativo de los niveles de **IFN- α** .
 - Un aumento paulatino del número de células secretoras de **IFN- γ** específicas frente al antígeno.
 - Una inducción de **anticuerpos neutralizantes** a partir del día 56.

Tras el desafío con una cepa campo heteróloga, la respuesta inmunitaria celular mediada por IFN- γ junto con la respuesta humoral con anticuerpos neutralizantes es capaz de prevenir y reducir la replicación del virus de PRRS y permitir una rápida eliminación de la viremia.



FootToo/shutterstock.com

BIBLIOGRAFÍA

1. Van Reeth K, Labarque G, Nauwynck H, Pensaert M. Differential production of proinflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. *Res Vet Sci.* 1999;67(1):47-52.
2. Van Reeth K, Nauwynck H. Proinflammatory cytokines and viral respiratory disease in pigs. *Vet Res.* 2000;31(2):187-213.
3. Murtaugh MP, Xiao Z, Zuckermann F. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral Immunol.* 2002;15(4):533-47.
4. López OJ, Osorio FA. Role of neutralising antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004;102(3):155-63.
5. Kekarainen T, Montoya M, Mateu E, Segalés J. Porcine circovirus type 2-induced interleukin-10 modulates recall antigen responses. *J Gen Virol.* 2008;89(3):760-5.
6. Mateu E, Díaz I. The challenge of PRRS immunology. *Vet J.* 2008;177(3):345-51.
7. Lunney JK, Fang Y, Ladinig A, Chen N, Li Y, Rowland B, Renukaradhya GJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): pathogenesis and interaction with the immune system. *Annu Rev Anim Biosci.* 2016;4:129-54.
8. Walsh DG, Horvath CJ, Hansen-Moosa A, MacKey JJ, Sehgal PK, Daniel MD, Desrosiers RC, Ringler DJ. Cytokine influence on simian immunodeficiency virus replication within primary macrophages. TNF-alpha, but not GM-CSF, enhances viral replication on a per-cell basis. *Am J Pathol.* 1991;139(4):877-87.
9. Ferrarini G, Borghetti P, De Angelis E, Ferrari L, Canelli E, Catella A, Di Lecce R, Martelli P. Immunoregulatory signal FoxP3, cytokine gene expression and IFN- γ cell responsiveness upon porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) natural infection. *Res Vet Sci.* 2015;103:96-102.
10. Dwivedi V, Manickam C, Binjawadagi B, Linhares D, Murtaugh MP, Renukaradhya GJ. Evaluation of immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs during early stage of infection under farm conditions. *Virol J.* 2012;9:45.

FICHA TÉCNICA

Suvaxyn PRRS MLV liofilizado y disolvente para suspensión inyectable para porcino

Composición: Cada dosis (2 ml) contiene: Virus PRRS vivo modificado, cepa 96V198: $10^{2.2} - 10^{5.2}$ DICC₅₀ *

** Dosis infectiva en cultivo celular 50%.

Indicaciones: Para la inmunización activa de cerdos clínicamente sanos a partir de 1 día de edad en un ambiente contaminado por el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS), para reducir la viremia y la excreción nasal causada por la infección con cepas europeas del virus PRRS (genotipo 1). Establecimiento de la inmunidad: 21 días después de la vacunación.

Duración de la inmunidad: 26 semanas después de la vacunación.

- Cerdos de engorde: Además, la vacunación de lechones seronegativos de 1 día de edad demostró una reducción significativa de las lesiones pulmonares frente al desafío administrado 26 semanas después de la vacunación. La vacunación de lechones seronegativos de 2 semanas de edad demostró una reducción significativa de las lesiones pulmonares y excreción oral frente al desafío administrado a los 28 días y 16 semanas después de la vacunación.
- Cerdas nulíparas y adultas: Además, la vacunación antes de la gestación en cerdas nulíparas y adultas clínicamente sanas, tanto previamente expuestas al virus PRRS (es decir, bien inmunizadas frente al virus PRRS mediante vacunación, o expuestas al virus PRRS por infección de campo) como no expuestas anteriormente, demostró una reducción de la infección transplacentaria causada por el virus PRRS durante el último tercio de la gestación y reducción del impacto negativo asociado al rendimiento reproductivo (reducción de la incidencia de mortinatos, de la viremia de los lechones al nacimiento y al destete, de las lesiones pulmonares y de la carga viral en los pulmones de los lechones al destete).

Contraindicaciones: No usar en explotaciones donde el virus PRRS europeo no haya sido detectado por métodos de diagnóstico fiables. No usar en verracos donantes de semen, puesto que el virus PRRS puede ser excretado en el semen. No usar durante la segunda mitad de la gestación en cerdas nulíparas y adultas gestantes si no han estado expuestas previamente al virus PRRS porque la cepa vacunal puede atravesar la placenta. La administración de la vacuna a cerdas nulíparas y adultas gestantes que no han estado previamente expuestas al virus PRRS durante la segunda mitad de la gestación puede afectar a su rendimiento reproductivo.

Advertencias especiales para cada especie de destino: Vacunar únicamente animales sanos.

Precauciones especiales para su uso en animales: Deben tomarse precauciones para evitar la introducción de la cepa vacunal en un área en la que no esté presente el virus PRRS. Los animales vacunados pueden excretar la cepa vacunal durante más de 16 semanas después de la vacunación. La cepa vacunal puede propagarse a cerdos en contacto. La vía de propagación más común es el contacto directo, pero no puede excluirse la propagación a través de objetos contaminados o por vía aérea.

Deben adoptarse precauciones especiales para evitar la propagación de la cepa vacunal a animales no vacunados (p.ej.: cerdas nulíparas y adultas gestantes no expuestas previamente al virus PRRS en la segunda mitad de la gestación) que deben permanecer libres del virus PRRS.

Se recomienda vacunar a todos los cerdos de una explotación a partir de la edad mínima recomendada.

Los animales que no hayan tenido contacto con el virus PRRS, introducidos en la explotación (p.ej., cerdas nulíparas de reposición de lotes negativos para el virus PRRS) deben ser vacunados antes de la gestación. Puede utilizarse en cerdas nulíparas y en cerdas adultas antes de la cubrición no expuestas con anterioridad al virus PRRS o en la primera mitad de la gestación. Puede utilizarse en cerdas nulíparas y adultas expuestas con anterioridad al virus PRRS en la segunda mitad de la gestación. No ha quedado demostrada la seguridad de la vacuna durante la lactancia.

Conservación: Conservar y transportar refrigerado (entre 2 °C y 8 °C). El disolvente puede ser conservado fuera de la nevera entre 15 °C - 25 °C. No congelar. Proteger de la luz. Período de validez después de su reconstitución: uso inmediato.

Eliminación: Todo medicamento veterinario no utilizado o los residuos derivados del mismo deberán eliminarse de conformidad con las normativas locales.

Tiempo de espera: Cero días.

Titular: Zoetis Belgium SA

Nº Registro: EU/2/17/215/001-003

Medicamento sujeto a prescripción veterinaria