

Mal Rojo: avances en el control mediante vacunación

¿Qué ha supuesto la incorporación del antígeno de 64 KDa?

Oscar R. González, David Carnicero, M^a Luisa de Arriba, Javier Pozo,
Departamento de I+D de Laboratorios Syva S.A.

El Mal Rojo es una de las enfermedades del cerdo más importantes a nivel mundial por las grandes pérdidas económicas que ocasiona (muertes, retrasos en el desarrollo de animales convalecientes, gastos en medicamentos preventivos y curativos, etc.).

El Mal Rojo es una enfermedad imposible de erradicar debido a que la causa es una bacteria ubicua, con una buena resistencia a los factores ambientales, y a que la infección es endémica en todos los países donde tiene lugar la explotación industrial del cerdo.

La bacteria responsable es *Erysipelothrix rhusiopathiae*, un bacilo Gram positivo de forma característicamente alargada y delgada, no esporulado, en ocasiones capsulado, anaerobio facultativo e inmóvil.

Se han descrito 27 serotipos en función del antígeno somático termoestable, que se numeran del 1 al 26 más el serotipo N, que carece de

dicho antígeno y que no es patógeno para ninguna especie.

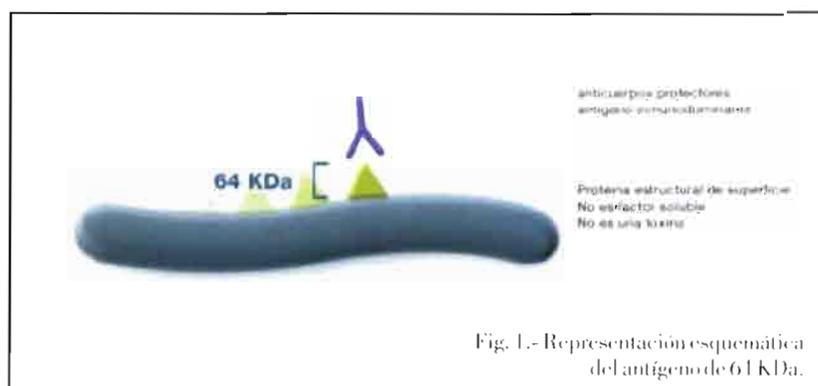
El cuadro 1 recoge las formas clínicas de la enfermedad en el cerdo. Normalmente se asocia al serotipo 1 con los cuadros agudos, y al 2 con los crónicos, suponiendo entre ambos más del 80% de los aislamientos tipificables. Los ensayos realizados en nuestro laboratorio nos permiten afirmar que la totalidad de aislamientos realizados a partir de casos agudos de Mal Rojo en cerdo Ibérico en el otoño e invierno del 2001 fueron asignados al serotipo 1.

La aparición de brotes se debe en la mayoría de los casos a la activación de la infección en cerdos portadores

inaparentes, ya que *E. rhusiopathiae* es capaz de permanecer acantonado en las tonsilas durante largos periodos. Aunque posee una resistencia en el ambiente notable para una bacteria no esporulada, este hecho no tiene demasiada trascendencia en el desencadenamiento de la enfermedad en un colectivo. El papel que representa el estrés (traslados en camión, cambios bruscos de la dieta, cambios en la temperatura, etc.) es indudable, y también se suele asociar a determinados factores climatológicos, como son los otoños húmedos.

El diagnóstico de la forma aguda no supone un problema para los veterinarios clínicos: la forma de presentación, las lesiones patognomónicas y la rápida respuesta al tratamiento con penicilina hacen prácticamente inconfundible esta enfermedad.

Aunque desde el punto de vista económico sea la infección en cerdos la que goza de mayor importancia, *E. rhusiopathiae* tam-



bién puede producir serios problemas en la producción de pavos y pollos, causando septicemia aguda, endocarditis y artritis crónicas, y puede infectar a más de cincuenta especies de animales de sangre fría y caliente, marinos y terrestres, incluyendo al hombre. Se considera una zoonosis y enfermedad laboral y puede presentarse como erisipeloide cutáneo, un proceso leve si es diagnosticado y tratado a tiempo, que en los casos más graves cursa con artritis y endocarditis.

Evolución en la prevención del Mal Rojo porcino

Los primeros pasos

Fue Koch en 1876 quien aisló por vez primera este microorganismo a partir de un ratón de laboratorio, y seis años más tarde Pasteur y su discípulo Thillier pusieron a punto la primera vacuna viva atenuada frente a la enfermedad, obtenida por sucesivos pases de una cepa virulenta en conejos.

La primera descripción detallada de la bacteria y de la enfermedad se debe a Löffler, en 1886, mientras que el primero que trabajó en la prevención del Mal Rojo fue Lorenz, veterinario alemán que en 1892 demostró la eficacia del suero anti Mal Rojo.

El suero de animales convalecientes contiene altas concentraciones de anticuerpos, de forma que cuando es suministrado a un animal infectado le ayudan a combatir la infección. El inconveniente de esta técnica

es que otorga una protección fugaz, ya que el título de anticuerpos va disminuyendo hasta desaparecer al no haber existido un estímulo antigénico que produjese la aparición de células de memoria o una producción de anticuerpos sostenida.

Lorenz desarrolló también el método de serovacunación: consiste en inocular simultáneamente una dosis de suero anti Mal Rojo y un cultivo vivo virulento de *E. rhusiopathiae* a los cerdos, de modo que lograba producir una infección leve y controlada que daba lugar al desencadenamiento de una respuesta inmune específica y duradera frente a este agente.

Este método fue empleado en Alemania hasta la década de 1940, y en Estados Unidos hasta la de 1950, cuando la aparición de las primeras vacunas comerciales proporcionó un método más seguro y fiable de prevención de la enfermedad, ya que existía el riesgo de que en caso de no aquilatar adecuadamente la dosis de antisero con la del cultivo de desafío pudiera producirse una infección generalizada del animal.

Las primeras vacunas

En 1947 aparece la primera bacterina producida a escala industrial frente al Mal Rojo porcino, y ocho años más tarde la primera vacuna viva atenuada.

Siguiendo la pauta marcada por los trabajos de Pasteur y Thillier se desarrollaron múltiples cepas atenuadas en distin-

tos países (Francia, Japón, Rusia, Estados Unidos...) en las que se basaban las vacunas, pero todas ellas tenían en común que su eficacia no me-



Cerdos convalecientes de mal rojo, con lesiones cutáneas muy extendidas.

mejoraba sensiblemente la de las bacterinas, y presentaban algunos inconvenientes importantes, como son el riesgo de reversión de la cepa a la virulencia, la cortadad de la vida útil de la vacuna (ya que exige mantener un título mínimo de erisipelas viables a lo largo del tiempo) y la imposibilidad de aplicar tratamientos antibióticos concomitantes con fármacos que afecten la viabilidad de las erisipelas, ya que causan la muerte de la cepa vacunal, perdiendo toda su eficacia.

En la actualidad en España no se comercializa ninguna vacuna de este tipo, y en Europa su presencia es testimonial, reducida a pocos ejemplos en algunos países del Este.

Las primeras bacterinas consistían en un cultivo completo inactivado por formol de una cepa virulenta de *E. rhusiopathiae*, conteniendo por tanto bacterias muertas, facto-

La aparición de las primeras vacunas comerciales proporcionó un método más seguro y fiable de prevención de la enfermedad



MOLINOS DE PIENSO SKIOLD

EL PROCESO ÓPTIMO DESDE EL GRANO HASTA EL PIENSO TERMINADO DE SKIOLD

- **Fábricas de pienso con capacidades 1 a 15 Ton/h.**
- **Le permite procesar su propio pienso con el tamaño y la composición exacta que sus animales necesitan.**
- **Aproveche al máximo las materias primas y ahorre dinero.**
- **Fabrique pienso de una forma sencilla y automática, sin descuidar a sus animales.**

afau
Molinos Afau s.l.

Apdo. correos 95
50750 - PINA DE EBRO
Tel. 976 16 65 52 Fax. 976 16 65 28
www.afau.net e-mail. Info@afau.net

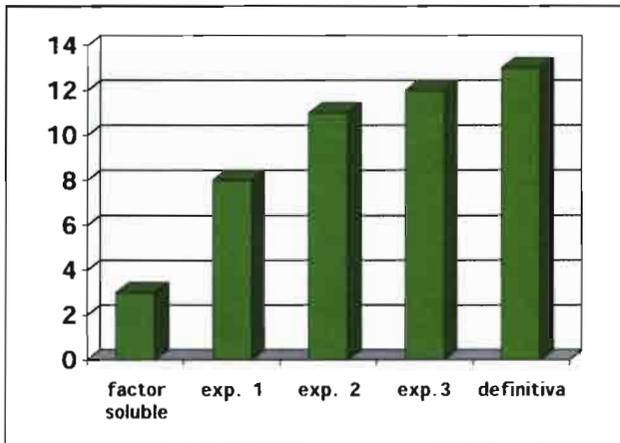


Fig. 2.- Comparación de la potencia relativa de distintas vacunas frente al Mal Rojo.

Fig. 3.- Lesiones cutáneas en el punto de inoculación en cerdos desafiados del grupo no vacunado.



res solubles (como la neuraminidasa) y restos del medio de cultivo. El gran inconveniente de estas vacunas radicaba en su reducida eficacia y en el riesgo de aparición de reacciones anafilácticas en las revacunaciones debidas a la activación de procesos de hipersensibilidad frente a componentes del medio de cultivo.

En la década de los 80 se introdujo un cambio sustancial en la elaboración industrial de estas vacunas: la purificación y concentración de los cultivos mediante técnicas de filtración en flujo tangencial o centrifugación continua, que permiten eliminar los restos de medio, reduciendo con ello el riesgo de aparición de reacciones anafilácticas, y capaces de alcanzar mayores títulos de bacterias en la vacuna, superiores incluso a los recuentos obtenibles por cultivo.

El antígeno de 64 KDa

El siguiente hito lo marca la primera descripción del antígeno de 64 KDa por un grupo de investigadores de la Universidad de Kentucky dirigido por Timoney en el año 1993.

Posteriormente, los trabajos de Maehara y su equipo en Japón permitieron caracterizar y definir la importancia de este antígeno en la protección frente a la enfermedad.

Se trata de una proteína de superficie, de carácter estructural, no de un factor soluble ni de una toxina, que forma parte de la pared celular de *E. rhusiopathiae*. Su papel en la biología de la bacteria no está claramente definido, pero desde luego no es un factor de virulencia, ya que está presente también en los serotipos apa-

tógenos como el N. Sin embargo, es un antígeno inmunodominante y da lugar a la aparición de anticuerpos protectores frente a la infección por erisipelas, lo que resulta crucial para el desarrollo de nuevas vacunas (figura 1).

Desarrollo de una nueva vacuna frente al Mal Rojo

Ante estos nuevos datos, Laboratorios Syva afrontó la tarea de poner a punto una vacuna que incorporase en su composición este antígeno. El planteamiento de realizar una vacuna de subunidades que sólo contuviera antígeno de 64 KDa purificado no parecía el más adecuado, ya que si bien es el principal antígeno de *E. rhusiopathiae* no es el único, y posiblemente insuficiente como para dar lugar a una respuesta protectora, por lo que se optó por una vacuna que incorporase, además de las bacterias inactivadas, el antígeno de 64 KDa.

Los objetivos que se marcaron fueron tres:

- Selección de la cepa: se estudiaron 19 aislamientos de *E. rhusiopathiae* procedentes del cepario de Laboratorios Syva. La mayor parte habían sido aislados de casos clínicos de cerdo Ibérico, y pertenecieron a los serotipos 1 y 2. Final-

CUADRO I. Formas aguda, subaguda y crónica del Mal Rojo

Signos clínicos

- Aguda: Septicemia y muertes súbitas en 24 horas, fiebre (40-42 °C durante 5-7 días), decaimiento, agarrotamiento, anorexia, abortos.
- Subaguda: Fiebre (no tan alta, persiste menos tiempo). Puede pasar desapercibido.
- Crónica: Artritis, rigidez articular (andan de puntillas). Insuficiencia cardíaca.

Lesiones

- Aguda: Lesiones cutáneas generalizadas (cuando da tiempo).
- Subaguda: Lesiones cutáneas localizadas.
- Crónica: Artritis degenerativa, endocarditis proliferativa.

mente pudimos seleccionar una cepa que mostraba una capacidad de producción de este antígeno superior a cualquier otra de las probadas.

- Optimización de las condiciones de cultivo: se realizaron más de 75 fermentaciones y probaron siete tipos de caldos diferentes hasta que pudieron concretarse tanto la fórmula del medio de cultivo como las condiciones idóneas para la producción del antígeno de 64 KDa en altas concentraciones.
- Método de extracción: asimismo, se ensayaron distintos tratamientos de extracción empleando tanto métodos físicos como químicos y combinaciones de ambos hasta optimizar un procedimiento que permitió recuperar las máximas concentraciones de antígeno de 64 KDa.

En resumen, tras más de un año de trabajo logramos poner a punto un método de producción del antígeno de 64 KDa eficaz, rentable y escalable hasta el nivel industrial.

Eficacia de la nueva vacuna

Llegado este punto, fue necesario comprobar que la nueva formulación vacunal era eficaz en la protección frente a la enfermedad, para lo que se realizaron dos tipos de experimentos en condiciones controladas, primero en ratones de laboratorio y luego en cerdo Ibérico.

Pruebas en ratones de laboratorio

En los últimos años, el Paul Ehrlich Institute de Langen (Alemania) ha puesto a punto un método de control de la potencia de los lotes de vacunas frente al Mal Rojo basado en la vacunación de un grupo de ratones para determinar posteriormente el título de anticuerpos circulantes como medida de la eficacia de la vacuna.

Los resultados de Potencia Relativa que obtuvimos (figura 2) demostraron que la eficacia de la nueva formulación vacunal cumplía holgadamente los requisitos de la prueba.

Pruebas en cerdo Ibérico

Una vez confirmamos la potencia de la vacuna en animales de laboratorio, llevamos a cabo también el ensayo oficial que describe la Farmacopea Europea sobre cerdos, eligiendo animales de tronco Ibérico para llevar a cabo el estudio.

El protocolo consiste en vacunar al menos 10 animales (machos y hembras de más de 20 Kg de peso y 12 semanas de edad libres de anticuerpos frente al Mal Rojo) con 2 ml, por vía intramuscular y revacunarlos tres semanas más tarde. Posteriormente se somete a los animales a un desafío por vía intradérmica con los serotipos 1 y 2 de *E. rhusiopathiae*, empleando las cepas proporcionadas por la Farmacopea Europea. Además, un grupo control no vacunado de al menos 5 animales de condición equivalente es sometido simultáneamente al desafío.

Todos los animales deben ser observados durante 7 días, y se considera que la vacuna cumple si al menos el 90% de los vacunados permanece libre de la lesión característica del Mal Rojo en el punto de inoculación, y el 80% de los no vacunados sí que la presentan o muestran otros signos característicos de la enfermedad (figura 3).

El resultado de nuestra prueba fue que ninguno de los animales que recibieron la vacuna mostró lesiones en el punto de inoculación o cualquier otro signo de la enfermedad, mientras que en todos los controles excepto uno apareció la lesión característica en el punto de inoculación de ambos serotipos.

Conclusión

Fruto de un intenso trabajo de investigación y desarrollo, la incorporación del antígeno de 64 KDa en la vacuna supone el avance técnico más importante en los últimos años en la prevención del Mal Rojo, logrando un incremento sustancial en la eficacia de la misma cuando se aplican los métodos oficiales actualmente en vigor.

Desde la **A** hasta la **Z** para animales bien alimentados



AVIZANT

Colorantes naturales para pigmentación de la yema de huevo y coloración de la piel en aves.

Loprotin

Complejo Zinc-Metionina para rumiantes.

CUXAROM

Aromas y saborizantes para animales (polvo y líquido).

LOXIDAN®

Antioxidantes para protección fiable frente a la alteración oxidativa de las grasas.

CUXAVIT

Vitaminas, blends y provitaminas para animales.

TOXISORB®

Arcillas naturales (bentonitas) con la superficie modificada con propiedades específicas ligantes.

GLOBIGEN

Huevo en polvo rico en globulinas para mejorar la digestibilidad en animales jóvenes.

ZY

Enzimas NSP y 6-Fitasa para porcino y aves.

LAH
LOHMANN
ANIMAL HEALTH

LOHMANN ANIMAL HEALTH
GmbH & Co. KG · D-27472 Cuxhaven
Contacto para España:
Christian Boigues
E-43005 Tarragona
Tel. +34 9 77-21 70 01
Contacto para España y Portugal:
Thomas Ihnen
E-28529 Madrid
Tel. +34 91-4 99 03 25
www.lah.de