EFICACIA EN CONDICIONES DE CAMPO DE UNA VACUNA RECOMBINANTE CONTRA LA COLIBACILOSIS PORCINA

✉Idania Wong,[1] Edy Bover,[1] Marbel Ramos,[1] Nemesio González,[1] Manuel Expósito,[1] Rutdalys Segura,[1] Eladio Salazar,[1] Alberto Agraz,[2] Idalmis Jiménez,[3] Luis Herrera[2] y José de la Fuente[2]

[1]*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apartado Postal 387, Camagüey, Cuba.* [2]*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Ciudad de La Habana, Cuba.* [3]*Empresa Porcina, Camagüey, Cuba.*

ABSTRACT

In this paper we present the evaluation of the recombinant vaccine VACOLI™ (Heber Biotec S.A., P.O.Box 6162, Havana, Cuba) in the control of *E. coli* infections in swine under production conditions in the Camagüey Province. A vaccination regime was evaluated in the swine farms of the province from May 1994 until August 1995. The parameters evaluated included morbility and mortality by *E. coli* in newborn and post-weaning piglets. Data after vaccination was compared with values reported during 1991, 1992 and 1993 before vaccination. Morbility was significantly reduced ($p < 0,05$) from 13 % to 0,9 %. Similarly, the mortality was reduced in piglets from 7 % to 0,3 %. Best results were obtained in post-weaning piglets, where no deaths were recorded during 1995. The economical benefit of vaccination was evaluated for the province considering the reduction in the losses caused by the disease. It resulted in savings of 914 140 US$ plus 810 263 Cuban pesos, representing loss reductions of 87 % and 97 % for US$ and Cuban pesos, respectively.

Key words: Escherichia coli, swine, vaccine, field trial, VACOLI™

Biotecnología Aplicada, 1996;13:16-19

RESUMEN

El presente trabajo evalúa la eficacia de la vacuna recombinante VACOLI™ (Heber Biotec S.A, P.O.Box 6162, La Habana, Cuba), utilizada en condiciones de campo contra la colibacilosis neonatal y posdestete en los cerdos de las granjas camagüeyanas, donde era frecuente esta enfermedad. Para ello se aplicaron los esquemas de vacunación indicados para las cerdas gestantes y las crías y se mantuvo un régimen de vacunación desde mayo de 1994 hasta agosto de 1995. Los parámetros de morbilidad y mortalidad por *E. coli* en crías y precebas, tomando como referencia los datos registrados en 1991,1992 y 1993, anteriores a la vacunación, fueron comparados estadísticamente, observándose diferencias significativas ($p < 0,05$); la morbilidad disminuyó desde un 13 % hasta un 0,9 % en ambas categorias; de forma similar se comportó la mortalidad, reduciéndose desde un 7 % hasta 0,3 % en las crías. Los mejores resultados de la vacunación se observaron en las precebas, ya que no se presentaron muertes por *E. coli* durante los meses de 1995. Se calculó el beneficio económico que tuvo la provincia con la vacunación, basado en la reducción de las pérdidas ocasionadas por la enfermedad, siendo este de 914 140 USD más 810 263 pesos cubanos, que representan una reducción de las pérdidas del 87 % en divisas y del 97 % en pesos cubanos.

Palabras claves: Escherichia coli, cerdo, vacuna, prueba de campo, VACOLI™

Introducción

En nuestro país la colibacilosis es una de las primeras causas de muerte por infecciones en cerdos neonatos y jóvenes, con una pérdida anual de hasta un 10 %, lo cual afecta la economía nacional en más de un millón de pesos. Muchas de estas pérdidas son provocadas por la debilidad y el incremento de la susceptibilidad a otras enfermedades del animal que escapa a la muerte, así como el incremento a su tendencia a otras enfermedades, además del costo en fármacos y el personal relacionado con el manejo del animal.

La vacunación ha causado un profundo impacto sobre el control de las enfermedades infecciosas y contribuye a la erradicación de las enfermedades contagiosas que afectan la producción porcina, y a la reducción de los costos destinados a elevar la salud animal (1, 2).

La introducción de las tecnologías del ADN recombinante y de los anticuerpos monoclonales han revolucionado las investigaciones sobre el desarrollo de vacunas y han creado las herramientas para estudiar en detalle la patogénesis molecular de las infecciones y los procesos inmunológicos responsables de inducir la inmunidad protectiva. Por ello se desarrollan vacunas más eficaces y seguras (3). La vacuna VACOLI™ (Heber Biotec S.A, P. O. Box 6162, La Habana, CUBA), formulada por nosotros, contiene como antígenos las fímbrias K88ab y K99 purificadas a partir del cultivo de cepas de *E. coli* K12 modificadas mediante ingeniería genética. Para demostrar su seguridad e inmunogenicidad se realizaron ensayos clínicos en diferentes animales y por el buen resultado de los mismos fue registrada en Cuba en octubre de 1994.

✉Autor de correspondencia

1. Brown F. New approaches to vaccination against foot-and-mouth disease. Vaccine 1992;10:1022-1026.
2. Terpstra C. Hog cholera: an update of present knowledge. Br. Vet. J. 1991; 147:397-406.
3. Van Oirshot JT. Vaccination in food animal populations. Vaccine 1994;12:415-418.

El presente trabajo recoge la evaluación y la eficacia de esta vacuna recombinante contra la colibacilosis porcina, aplicada en condiciones de campo en la provincia de Camagüey, Cuba. Para ello se estudió la prevención de la mortalidad y morbilidad y la reducción de la replicación de los microorganismos causantes de esta enfermedad. Además, se determinó el beneficio económico que tuvo la provincia al efectuar la vacunación.

Materiales y Métodos

Animales

Para realizar la vacunación de los animales se seleccionaron las tres principales granjas de ciclo completo (cría y ceba) situadas en la provincia de Camagüey, perteneciente a la región oriental de Cuba. Obtuvimos un total de 1 449 madres de cría pertenecientes a las razas Landrace, Yorkshire y Duroc. El promedio mensual de animales (crías más precebas) vacunados fue de 7 696 en 1994 y 6 604 en 1995.

Vacunación

La vacunación se realizó con la vacuna oleosa VACOLI™ (Heber Biotec S.A, P.O.Box 6162, La Habana, CUBA), la cual contiene como antígenos las fimbrias recombinantes K88ab y K99 de *E. coli* enterotóxicas, ambas expresadas en cepas de *E. coli* no patógenas a partir de las cuales fueron purificadas y resuspendidas en tampón fosfato 50 mM. Su aplicación se realizó por inyección intramuscular profunda de 2 mL a las cerdas, en la tabla del cuello y 1 mL a las crías en la cara interna del muslo.

El esquema de vacunación orientado para las cerdas gestantes fue de dos dosis, la primera en la semana ocho de gestación y la segunda en la 14, debiéndose realizar la restimulación en la semana 14 de la próxima gestación. En el caso de las crías también se propusieron dos dosis pero con 1/2 del volumen de la dosis de las cerdas, la primera entre los días cinco y siete de nacidas y la segunda dos semanas antes del destete.

Se inició la vacunación en mayo de 1994 y continuó hasta agosto de 1995. Durante este período, se distribuyó la vacuna VACOLI™ en las diferentes granjas camagüeyanas a través de la empresa porcina, de manera tal que se aplicara bajo las condiciones de manejo, alimentación e higiene existentes en cada unidad.

Análisis de seroconversión

Se visitaron las granjas donde se aplicó la vacunación y se tomaron muestras de sangre de aproximadamente el 20 % del total de animales escogidos al azar, para separar sus sueros y determinar su seropositividad frente a los antígenos K88ab y K99 contenidos en la vacuna (6).

Estudio de la eficacia de la vacunación

Los principales aspectos analizados para el estudio de la eficacia fue la reducción de la morbilidad y la mortalidad y la disminución de las bacterias circulantes durante el período posterior a la vacunación.

Se registraron los valores de morbilidad y mortalidad reportados mensualmente en cada una de las granjas y se determinaron sus promedios anuales en 1994 y en los meses de enero a agosto de 1995. Cada uno de estos valores fueron comparados estadísticamente con los reportados durante los tres años anteriores a la vacunación (1991, 1992 y 1993). El método estadístico empleado fue el análisis de varianza incluído en el Software Statgraph.

Clasificación de los tipos de E. coli *causantes de las diarreas*

Para clasificar los tipos de *E. coli* circulantes en las diferentes granjas porcinas, se tomaron muestras de heces fecales mediante hisopaje rectal a las crías diarreicas con menos de 20 días de nacidas y a las precebas también diarreicas con una o dos semanas después de destetadas. Las muestras fueron sembradas en agar Mac Conkey (Oxoid, Reino Unido) e incubadas de 18 a 20 horas a 37 °C. Se tomaron cinco colonias por placa para su identificación (4), y las *E. coli* positivas fueron clasificadas de acuerdo al tipo de fimbria que presentaban utilizando anticuerpos monoclonales según el procedimiento empleado por el grupo de Inmunología de nuestro Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (resultados no publicados).

Los resultados obtenidos a partir de los seis meses posteriores a la vacunación fueron comparados con los reportados en las diferentes granjas camagüeyanas durante los años anteriores (5).

Beneficio económico

El beneficio económico obtenido en la provincia con la vacunación se calculó por la reducción de las pérdidas ocasionadas por colibacilosis al proteger con la vacunación tanto a las crías como a las precebas.

Para ello se estimaron las pérdidas que tuvo la provincia con anterioridad al inicio de la vacunación (años 1991, 1992 y 1993), y las pérdidas presentadas por la enfermedad durante el año 1994 y los primeros ocho meses de 1995, no obstante haberse iniciado la vacunación en el mes de mayo de 1994.

Pérdidas ocasionadas por la mortalidad en las categorías de cría y preceba

Fueron calculadas por concepto de no venta de los animales de preceba y por el costo de producción de las crías muertas.

Pérdidas ocasionadas por morbilidad en las categorías de cría y preceba

En este cálculo se incluyeron las pérdidas por baja conversión alimentaria de los animales que padecieron la enfermedad y no alcanzaron una conversión normal de su peso y, además, el costo de su tratamiento. Estos animales fueron clasificados dentro de la categoría de segunda y durante su venta fueron valorados a un precio inferior.

Aspectos que se consideraron

- Peso promedio de las precebas al destete: 20 kg.
- Precio valorado para las precebas: 5.00 USD/kg.

4. Lennette E, Balows A y Hausler JR. Manual of clinical Microbiology American Society for Microbiology Washington DC. 1985; 1149(4th Edition):263-277.

5. Borroto A, Basulto R, Moreno M, Silva R, Wong I, Bover E, Valderrama S, Gutierrez E, Calzada L, Joglar M, Herrera L y De La Fuente J. Clonación de las subunidades fimbricas K88ab y K99 e identificación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas aisladas de cerdos enfermos. Biotecnología Aplicada 1992;9:148-155.

6. Wong I, Moreno M, Molerio M, Valderrama S, Joglar M, Horrach M, Bover E, Borroto A, Basulto R y De La Fuente J. Immunity and Protection elicited by a recombinant Vaccine against Enterotoxigenic *E. coli*. Biotecnología Aplicada 1995;12:9-15.

Tabla 1. *Promedio mensual de los parámetros utilizados en la evaluación de la vacunación con VACOLI.™*

Años	Total de cabezas			Morbilidad (%)	Recuperados (%)	Mortalidad (%)	
	Crías	Precebas	Crías + Precebas			Crías	Precebas
1991	11 698	16 906	28 603	10	55	6	3
1992	5 605	5 664	11 269	13	57	7	4
1993	3 075	2 728	5 802	8,3	74	2,8	1,6
1994	3 157	4 539	7 696	4,5	74	2,1	0,6
1995	2 949	3 655	6 604	0,9	72	0,3	0

- Peso promedio en los animales de ceba: 80 kg.
- Peso promedio en los animales recuperados: 50 kg.
- Precio valorado para los animales de ceba basado en la primera (si es mayor de 60 kg de peso): 1.42 USD/kg.
- Precio valorado para los animales de ceba basado en segunda (si es menor de 60 kg de peso): 1.00 USD/kg.
- Que todos los animales enfermos por colibacilosis, recibieron tratamiento con sulfadimidina inyectable y que el costo del tratamiento se determinó basado en un peso promedio por animal de 7 kg.

Resultados y Discusión

En ausencia de un programa nacional de control sobre las enfermedades que afectan a los animales, la decisión de vacunar o no es principalmente tomada por las granjas individuales. Esto debe estar basado usualmente sobre un análisis de costo-beneficio, el cual es, sin embargo, generalmente difícil de desarrollar completamente. En general, lo más ventajoso económicamente hasta ahora es la aplicación de vacunas eficaces contra un amplio rango de enfermedades infecciosas (3). Los animales como el cerdo, amamantados bajo condiciones específicas libres de patógenos o sujetos a una medicamentación temprana al destete, crecen con mayor rapidez que los criados convencionalmente. Es por ello que la vacunación de las cerdas gestantes y de las crías en edad temprana es la mejor vía de proporcionarle la inmunidad sin ocasionar al productor grandes pérdidas económicas.

La aplicación de VACOLI™ tanto a las cerdas gestantes como a sus crías proporcionó una disminución de las pérdidas causadas por la *E. coli* enterotóxica en las granjas camagüeyanas, no obstante presentarse en nuestra industria porcina, con respecto a años anteriores, condiciones de alimentación menos favorables a partir del año en que se inició la vacunación.

La Tabla 1 muestra los valores promedios mensuales de morbilidad y mortalidad tanto en crías como en precebas obtenidos durante los meses enero a diciembre de 1991, 1992, 1993 y 1994, y los obtenidos durante los meses de enero a agosto de 1995.

La Figura 1 muestra los valores promedios de morbilidad por *E. coli* durante cinco años. En los tres primeros de ellos se había mantenido habitualmente la enfermedad en todas las granjas de la provincia, reportándose valores de hasta un 13 % de enfermos. Con el inicio de la vacunación en mayo de 1994, la cual continuó realizándose hasta 1995, el comportamiento de la morbilidad fue descendente, disminuyendo hasta un 0,9 % durante los primeros ocho meses de 1995. En el análisis estadístico de los resultados se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el número de animales enfermos antes y después de la vacunación.

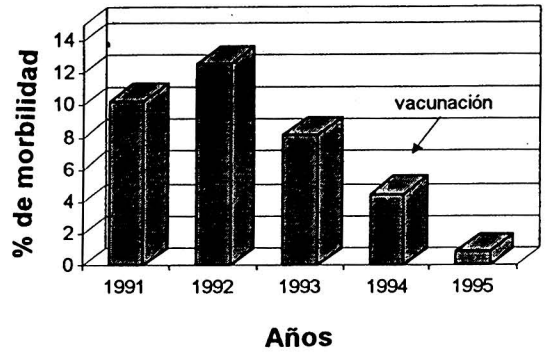

Figura 1. *Morbilidad por E. coli en la provincia de Camagüey.*

El análisis de seroconversión realizado nos indicó que en algunos casos de camadas con diarreas en la etapa posterior a la vacunación, las madres no poseían un nivel suficientemente alto de anticuerpos en el suero, posiblemente producto de que no habían recibido correctamente la reestimulación con VACOLI™.

La Figura 2 muestra el comportamiento de la mortalidad por *E. coli* en crías y en precebas; se observa en ambas categorías una disminución considerable de este parámetro, hasta alcanzar también niveles significativamente bajos ($p < 0,05$) en 1995.

Los resultados de este parámetro muestran el efecto de la inmunización pasiva en las crías, a través del calostro de las madres vacunadas y la inmunización activa de los lechones, con las dos dosis aplicadas a las crías. En general los resultados muestran que hubo una disminución considerable de la mortalidad en los animales de preceba hasta llegar a nulo a finales de 1994 y aun durante 1995 (Figura 2). El análisis de los tipos de *E. coli* circulantes, demostró que a medida que avanza la vacunación, junto con la disminución del número de animales diarreicos, hubo una desaparición de las cepas de *E. coli* K88ab+ y K99+. En el 9 % de los aislamientos realizados en 1995 a animales con diarrea, se identificaron *E. coli* del tipo P987+, lo cual es posible ya que VACOLI™ contiene como antígenos

Tabla 2. *Representación de las pérdidas y el beneficio de la vacunación con VACOLI™ en la provincia de Camagüey.*

Causa de las pérdidas	1991		1992		1993		1994		1995	
	pesos	USD	pesos	USD	pesos	USD	pesos	USD	pesos	USD
Morbilidad	11 795	1 313 606	6 063	653 563	1 975	273 259	1 432	199 926	163	33 137
Mortalidad	1 454 079	591 600	855 710	267 600	177 837	52 800	26 546	32 500	3 022	0
Costo de vacuna	-	-	-	-	-	-	9 909	3 854	10 086	3 923
Gasto promedio	1991-1993: 835 820 pesos + 1 050 810 USD						1994-1995: 25 579 pesos + 136 670 USD			
Beneficio de la vacunación	810 240 pesos + 914 140 USD									

protectores a las fimbrias K88ab y K99. Estos resultados muestran que la vacunación con VACOLI™ fue efectiva frente a los tipos de cepas de *E. coli* K88ab+ y K99+ circulantes en nuestra provincia.

En la Tabla 2 se muestran las pérdidas que ocasionó en la provincia esta enfermedad desde 1991 hasta agosto de 1995. No obstante haber ocurrido una disminución de la masa porcina durante estos años, el gasto promedio antes de la vacunación fue superior al gasto promedio de los años en que esta se efectuó, obteniéndose un beneficio económico para la provincia (basado en la reducción de las pérdidas como resultado de la vacunación) de 914 140 dólares americanos más 810 240 pesos cubanos. Esto representa una recuperación del 87 % de la moneda libremente convertible y del 97 % de la moneda nacional en la producción porcina de la provincia.

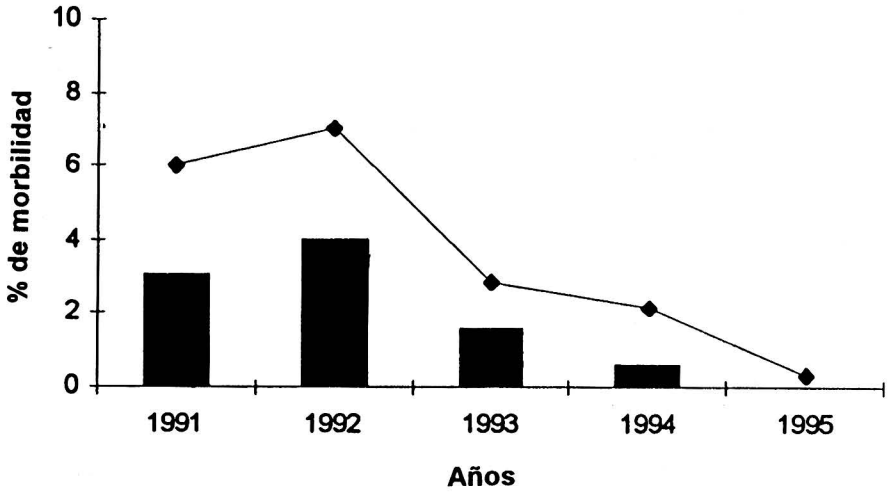

Figura 2. *Mortalidad por* E. coli *en la provincia de Camagüey.*

Conclusiones

1 La vacunación de las cerdas gestantes y de las crías con una vacuna que contiene los antígenos pertenecientes a la mayoría de las cepas *E. coli* circulantes, junto con la aplicación de un sistema de diagnóstico que identifique los animales infectados dentro de los grupos vacunados, ofrece amplias posibilidades para la erradicación de la colibacilosis porcina y permite obtener beneficios económicos a las empresas destinadas a la cría y ceba del cerdo.

2 La aplicación de VACOLI™ en condiciones de campo proporcionó una disminución de la morbilidad por *E. coli* hasta 0,9 % en las categorías de crías más precebas, y una disminución de la mortalidad hasta 0,3 %, ambas reportadas a los quince meses después de iniciada la vacunación.

3 La práctica continuada de la vacunación en la provincia de Camagüey puede disminuir la incidencia de la infección por *E. coli* K88ab+ y K99+ y por consiguiente las consecuencias posteriores a la enfermedad.

4 El uso de la vacunación en nuestras unidades de cría intensiva de cerdos estuvo económicamente justificado ya que proporcionó un beneficio de 914 140 dólares americanos más 810 240 pesos cubanos.

Recibido en septiembre de 1995. Aprobado en octubre de 1995