

SEGUIMIENTO SEROLÓGICO DE CABALLOS INMUNIZADOS CON VACUNA RECOMBINANTE DE FIEBRE DEL NILO OCCIDENTAL EN ZONAS DE RIESGO DE LA ENFERMEDAD

Gómez, B.(1), Vinuesa, M.(2), De Felipe, M.(2), Esteban, I.(3), Rojo, G.(1), Villalba, R.(1), Agüero, M.(1), Durán-Ferrer, M.(1)
 (1)Laboratorio Central de Veterinaria, Algete, Madrid. (2)Yeguada La Cartuja – Hierro del Bocado. EXPASA AGRICULTURA Y GANADERÍA SOCIEDAD MERCANTIL ESTATAL S.A. Jerez de la Frontera, Cádiz (3)Tecnologías y Servicios Agrarios (TRAGSATEC)

INTRODUCCION:

La fiebre del Nilo Occidental (FNO) es una enfermedad causada por un arbovirus del género Flavivirus transmitida por mosquitos del género Culex, entre otros, y que puede afectar a las aves, caballos y personas, causando infección subclínica, enfermedad febril leve, meningitis, encefalitis y en casos graves la muerte. Se mantiene en la naturaleza a partir del ciclo ave-mosquito. Tanto el ser humano como el caballo están considerados especies "fondo de saco", sin relevancia epidemiológica en la transmisión. Clásicamente la enfermedad se circunscribía al continente africano, pero desde los años 90 la FNO es una zoonosis emergente en América, Europa, Oriente Medio y otras áreas. En España, se han registrado casos en caballos desde el año 2010, principalmente en el Suroeste peninsular. De los 9 focos detectados en 2018, la mayoría ocurrieron en esta zona.

La enfermedad se manifiesta en el caballo con un cuadro clínico poco específico lo que hace necesario recurrir al diagnóstico de laboratorio. Éste se realiza mediante la detección de anticuerpos específicos frente al virus en el suero, la detección del genoma y/o el aislamiento del virus. En el caso de la detección del virus o su genoma, las muestras de elección son el encéfalo y la médula espinal del cadáver. En el animal vivo es poco probable la detección aunque en ocasiones se recurra a la sangre completa como muestra de estudio. La serología es pues la herramienta de elección para la confirmación de los casos clínicos en caballos. En este contexto, además de ELISA de bloqueo, capaz de detectar cualquier isotipo de inmunoglobulina, y la prueba de seroneutralización, se utiliza el ELISA de captura para la detección del isotipo IgM, que por su dinámica de presentación durante una infección permite confirmar que se trata de una infección reciente.

En las zonas de riesgo se practica la profilaxis vacunal. Están disponibles, entre otras, vacunas inactivadas y vacunas recombinantes.

La FNO es una enfermedad de declaración obligatoria en la Unión Europea cuando se presenta en caballos (Real Decreto 526/2014). La definición de "caso confirmado de FNO" incluye, entre otros supuestos, la presencia simultánea de signos clínicos compatibles con la enfermedad y de un resultado positivo a ELISA IgM. Los anticuerpos post-vacunales son indistinguibles de los inducidos por el virus de campo aunque las vacunas de última generación raramente inducen isotipos IgM detectables que interfieran con las pruebas de serología necesarias para la confirmación de caso.



MATERIALES Y MÉTODOS:

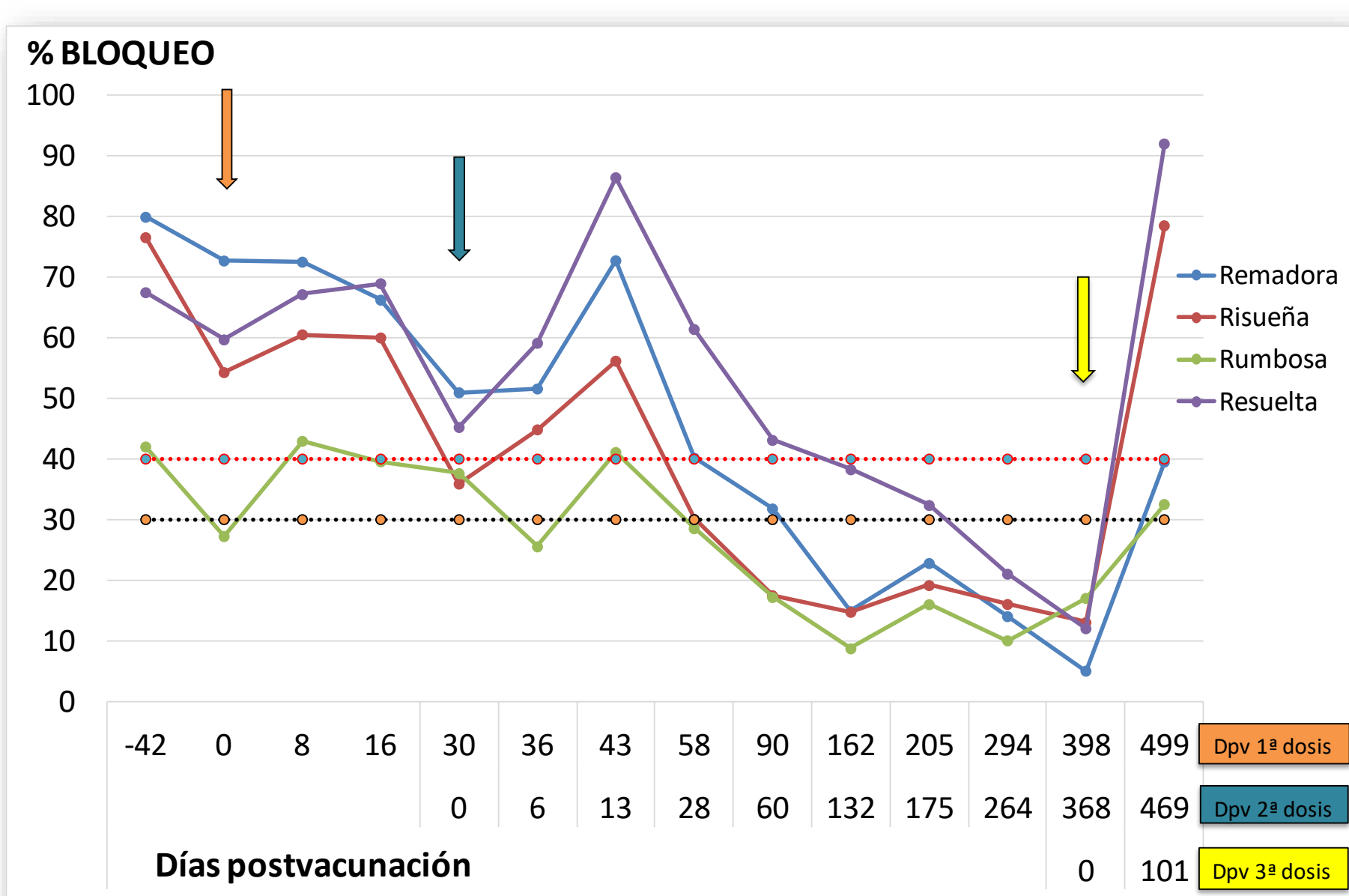
El objetivo del trabajo que se presenta es el estudio del perfil serológico mostrado por potros inmunizados en condiciones de campo con vacuna recombinante viva que emplea el virus de la viruela del canario (Canarypox) como vector de expresión de los genes del virus del FNO que codifican las proteínas estructurales preM y E (PROTEQ WNV, Merial).

Los animales de Pura Raza Española pertenecen a la Yeguada de La Cartuja Hierro del Bocado, localizada en una zona de Cádiz considerada de riesgo de FNO. En esta yeguada se practica de manera preventiva la vacunación.

Nueve (9) potros (2 machos y 7 hembras) entre 6,6 y 7,9 meses de edad, nacidos de madres vacunadas, fueron primo-vacunados con dos dosis (día 0 y día 30) y revacunados al año aproximadamente (día 398).

Se tomaron muestras seriadas de suero. La primera toma se realizó 42 días antes de la administración de la primera dosis con la finalidad de definir el estatus inmunológico previo, y después a día 0, 8, 16, 30, 36, 43, 58, 90, 162, 205, 294, 398 y 499 post vacunación. La evolución de los anticuerpos se estudió por los métodos de ELISA de bloqueo (Ingezim West Nile Compac), ELISA de captura IgM (Ingezim West Nile IgM) y seroneutralización (SN, Manual OIE 2018), todos ellos incluidos en el alcance de acreditación del LCV por la norma ISO 17025.

Gráfica 1: Cinética de anticuerpos (ELISA de BLOQUEO) Grupo inicialmente seropositivo (P)



RESULTADOS:

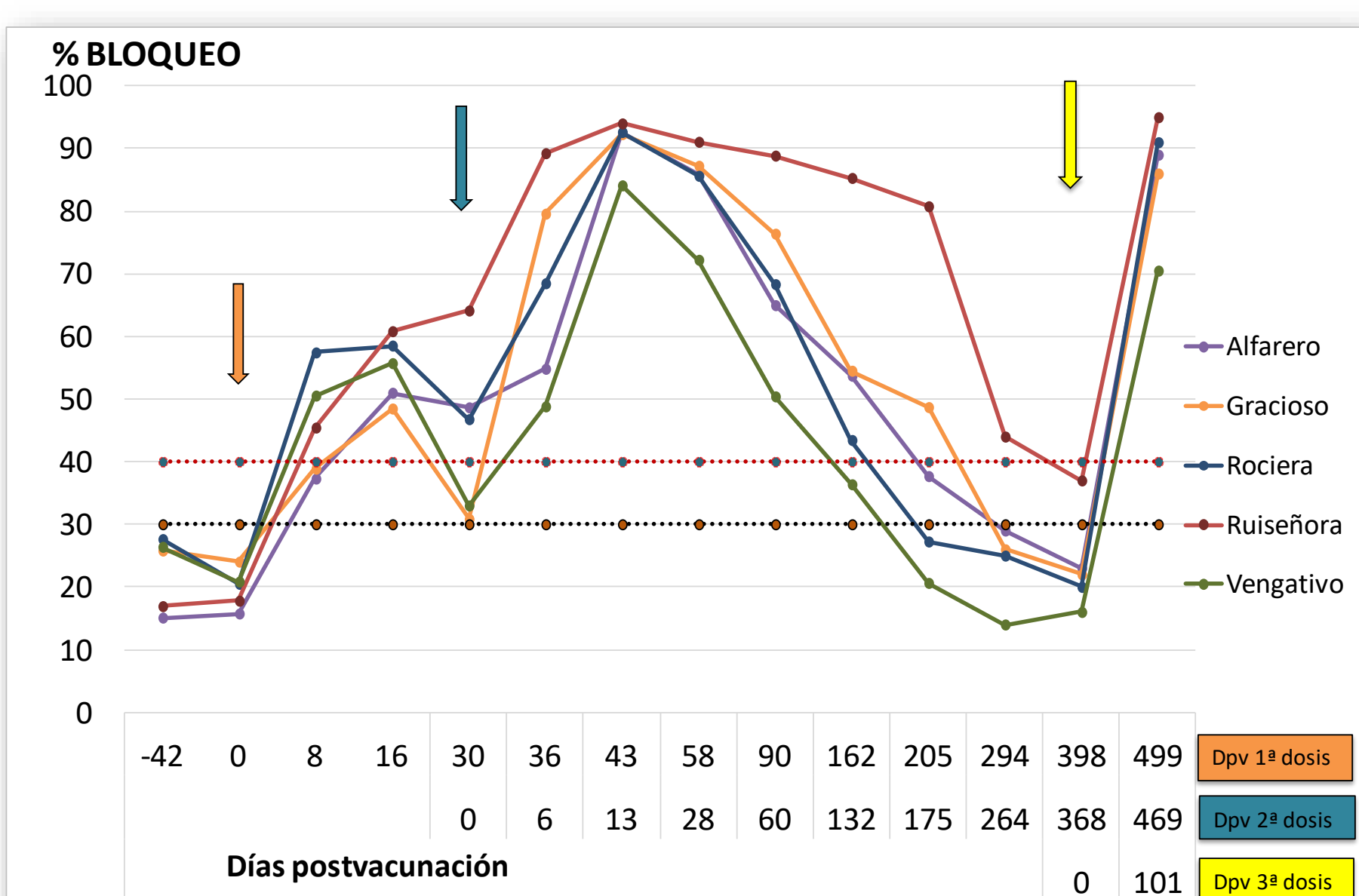
En la primera toma (día -42), 4/9 potros mostraron anticuerpos detectables por ELISA de bloqueo. Los restantes (5/9) resultaron negativos. En función de estos resultados se han definido dos grupos para describir los perfiles serológicos encontrados: grupo inicialmente seropositivo (grupo P, n=4) y grupo inicialmente seronegativo (grupo N, n=5).

El ELISA de bloqueo detectó los anticuerpos en todos los animales del grupo N desde el día 8 pv (dpv). El nivel de anticuerpos (frecuencia de positivos y % de bloqueo) se incrementó hasta las dos semanas después de la primera dosis (día 16 pv), aunque los caballos mostraron el pico máximo de anticuerpos a los 13 días después de la segunda dosis (día 43 pv). En el grupo P, el aumento significativo de la respuesta sólo se apreció después de la segunda dosis de vacuna (día 43 pv) (Gráficas 1 y 2).

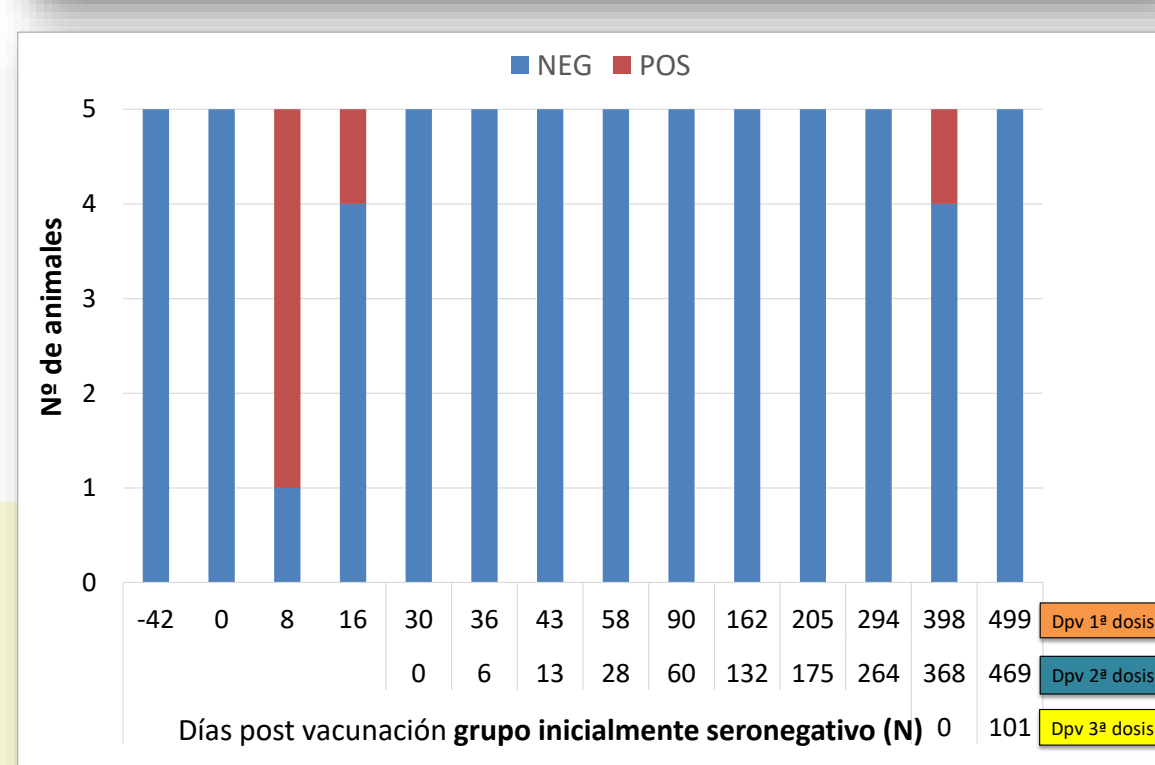
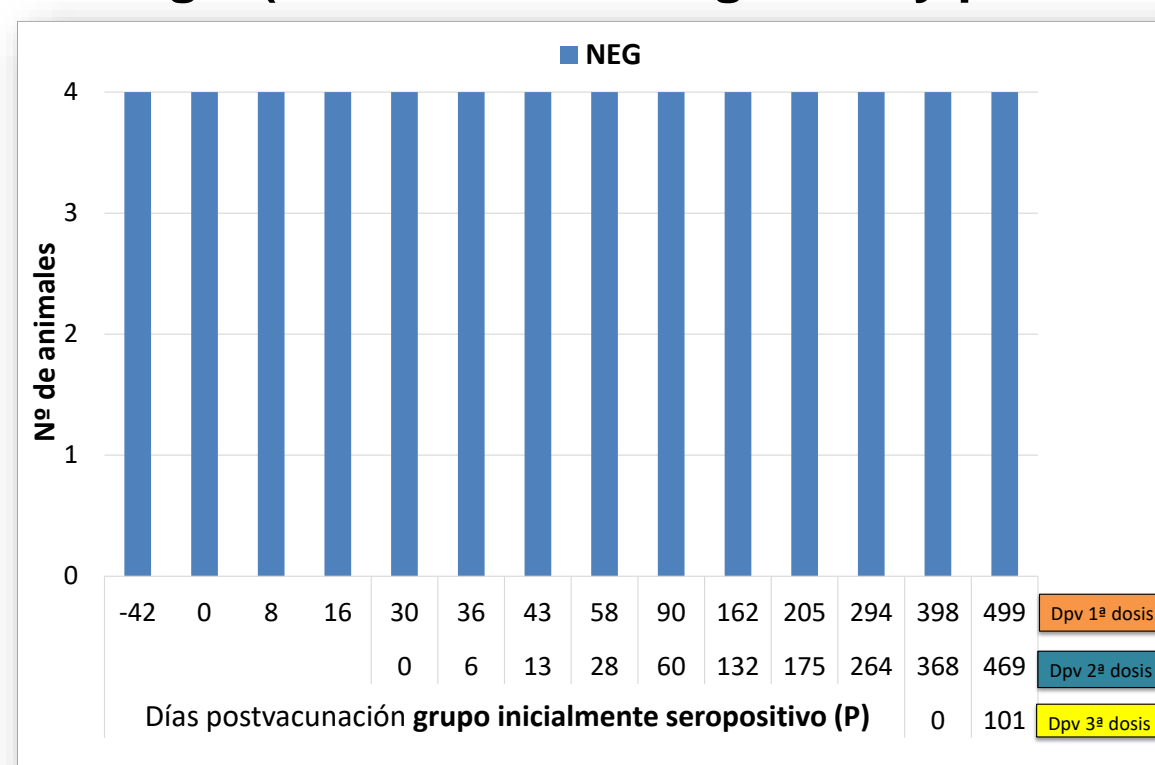
Después de este momento, los anticuerpos detectables por ELISA de bloqueo bajaron de manera paulatina en los dos grupos. La frecuencia de positivos y el % de bloqueo descendió con mayor celeridad en el grupo P que en el grupo N. Tras la administración de la dosis de recuerdo (día 398), los animales de ambos grupos manifestaron un repunte de anticuerpos.

En cuanto al ELISA IgM, 4/5 animales del grupo N resultaron positivos a día 8 pv, uno de los cuáles mostró también anticuerpos detectables a día 16 pv. Salvo en este último, la señal (densidad óptica corregida) fue débil. No obstante, ningún animal manifestó anticuerpos detectables por SN. En cuanto al grupo P, permaneció seronegativo a ambas técnicas durante todo el seguimiento (Gráficas 3, 4, 5 y 6).

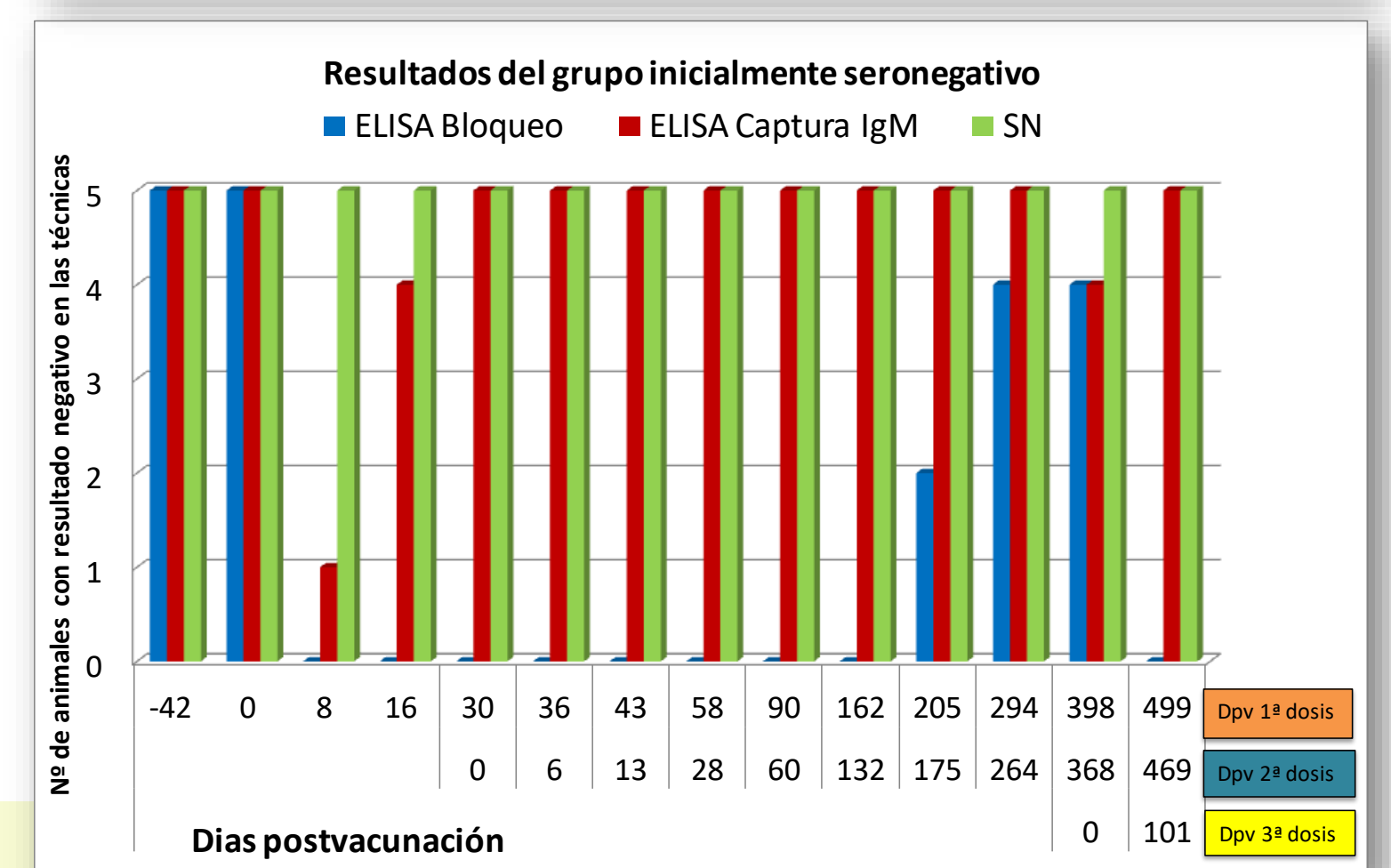
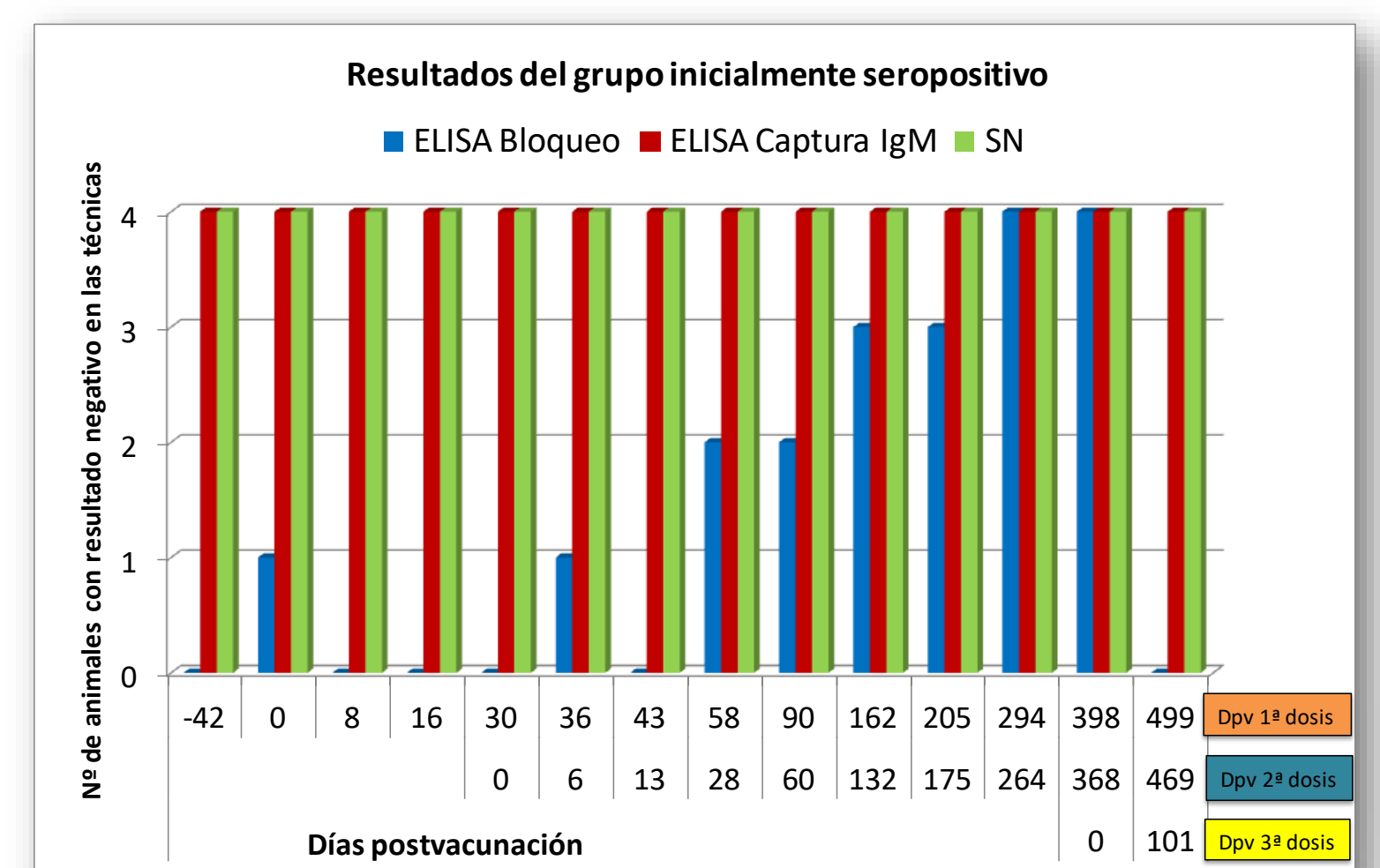
Gráfica 2: ELISA de BLOQUEO-Grupo inicialmente seronegativo (N)



Gráficas 3 y 4: Detección de anticuerpos por ELISA IgM (Frecuencia de negativos y positivos)



Gráficas 5 y 6: Evolución de la frecuencia de animales negativos (ELISA de BLOQUEO, ELISA IgM y SN)



CONCLUSIONES:

- ✓ La vacuna indujo anticuerpos totales claramente detectables por ELISA de bloqueo en todos los caballos, con matices en función del estatus inmunológico de partida (seropositivo o seronegativo).
- ✓ Por lo que se refiere a los anticuerpos IgM post-vacunales, posible interferentes para la confirmación de la enfermedad, se detectaron de manera leve y pasajera sólo en el grupo seronegativo de partida.
- ✓ En consonancia con el hallazgo anterior, la técnica de seroneutralización no detectó anticuerpos, presentando menor sensibilidad.

BIBLIOGRAFÍA:

- Merial 2017. PROTEQ WEST NILE suspensión inyectable para caballos. Ficha técnica del producto.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).2018. Fiebre del Nilo Occidental. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. París.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). 2019.Fiebre del Nilo Occidental (https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/fiebre-nilo-occidental/F_O_Nilo.aspx). Fecha de consulta 2.11.2019

Agradecimientos: A todo el personal del Dpto. de Virología2 del Laboratorio Central de Veterinaria, Algete.