

PERSISTÊNCIA DE ANTICORPOS DE ORIGEM MATERNA EM LEITÕES DE PORCAS IMUNIZADAS COM VACINA INATIVADA OLEOSA CONTRA A DOENÇA DE AUJESZKY¹

CARLOS H. ROMERO² e ROBIS S. FLORES³

RESUMO - Porcas das raças Duroc, Hampshire, Landrace e Large White, de um, dois e três partos, foram imunizadas, entre os 70-90 dias de cada gestação, com vacina inativada oleosa contra a doença de Aujeszky (DA). Os níveis de anticorpos neutralizantes, nas porcas, foram avaliados às duas e 16 semanas após o parto. Similarmente, os níveis de anticorpos neutralizantes foram determinados nos leitões destas porcas às duas, quatro, seis, oito, dez, doze, quatorze e 16 semanas de idade. A duas e 16 semanas após o parto, respectivamente, apenas 18,8% e 44,4% das porcas vacinadas uma vez possuíam anticorpos neutralizantes, enquanto que cem por cento das porcas vacinadas duas vezes e testadas a duas e 16 semanas eram positivas. Por outro lado, 78,6% e 75% das porcas vacinadas três vezes possuíam anticorpos, respectivamente a duas e 16 semanas após o parto. Anticorpos neutralizantes de origem materna foram detectados nos leitões a partir da segunda semana de idade. Esses anticorpos estavam presentes apenas nos leitões de porcas com anticorpos. Em leitões de porcas vacinadas uma vez, os anticorpos de origem materna persistiram até a décima ou a 12ª semana de idade, enquanto que, em leitões de porcas vacinadas duas ou três vezes, esses anticorpos persistiram até um máximo de quatorze semanas.

Termos para indexação: pseudorraiva, anticorpos neutralizantes, imunidade passiva, suíno.

PERSISTENCE OF MATERNAL ANTIBODIES IN PIGLETS FROM SOWS IMMUNIZED WITH AN INACTIVATED OIL-EMULSION VACCINE AGAINST AUJESZKY'S DISEASE

ABSTRACT - Duroc, Hampshire, Landrace and Large White sows were immunized between the 70th and 90th days of one, two or three successive gestations with an inactivated oil-emulsion vaccine against Aujeszky's disease. The levels of neutralizing antibodies in the sows were evaluated at two and 16 weeks after farrowing. Similarly, the levels of neutralizing antibodies in their piglets were determined at two, four, six, eight, ten, twelve, fourteen and 16 weeks of age. At two and 16 weeks after farrowing, respectively, only 18.8% and 44.4% of the sows vaccinated once had neutralizing antibodies while one hundred percent of sows vaccinated twice and tested two and 16 weeks after farrowing were positive. On the other hand, 78.6% and 75% of the sows vaccinated three times possessed antibodies, respectively, two and 16 weeks post farrowing. Neutralizing antibodies of maternal origin were demonstrable in the piglets from the second week of life onwards. Those antibodies were present only in the piglets of sows with antibodies. In piglets of sows vaccinated only once, maternally-derived antibodies persisted up to the 10th or 12th week of life, while in piglets of sows vaccinated two or three times, those antibodies persisted a maximum of fourteen weeks.

Index terms: pseudorabies, neutralizing antibodies, passive immunity, swine.

INTRODUÇÃO

A doença de Aujeszky (DA) é uma infecção viral de considerável importância econômica para as explorações suínas, por causar elevada mortalidade em leitões até duas ou três semanas de idade, transtornos reprodutivos em porcas gestantes, complicações sanitárias para a comercialização dos

suínos e interdição da granja onde ocorre surto da doença (Gustafson 1981, James et al. 1983). O preço do controle da doença é a vigilância sorológica constante dos suínos da granja, bem como daqueles a serem introduzidos em propriedade negativa.

Quando a DA ocorre em plantéis de reprodutores de alto valor genético de difícil reposição imediata e a estratégia de depopulação total não é praticável, recomenda-se a vacinação de todos os suínos da granja com vacinas vivas atenuadas ou com vacinas inativadas. O objetivo imediato é o de deter a excreção do agente casual, o vírus herpes da doença de Aujeszky (VDA) e, assim, reduzir os níveis

¹ Aceito para publicação em 18 de fevereiro de 1987.

² Méd.-Vet., Dip. T.V.M., Ph.D., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Caixa Postal D-3, CEP 89700 Concórdia, SC.

³ Méd.-Vet., Bolsista. EMBRAPA-CNPISA.

do VDA no meio ambiente, detendo o surto o mais rápido possível e diminuindo as perdas econômicas (McFerran et al. 1979). Eventualmente, com o incremento da imunidade vacinal do plantel, as possibilidades de se ter vírus no meio ambiente serão, no pior dos casos, muito raras, e os suínos em crescimento que adquiriram imunidade passiva através do colostro se tornarão sorologicamente livres de anticorpos para o VDA, podendo, então, ser utilizados para a iniciação de um novo plantel de reprodutores, com características genéticas similares aos suínos da geração presente no plantel durante o surto.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a persistência de anticorpos de origem materna em leitões de matrizes vacinadas contra a DA, em plantel de reprodutores que tinha sido acometido de surto da DA e onde se havia iniciado um programa de vacinação contra a doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Suínos

O estudo foi realizado em uma granja de reprodutores, localizada no Estado de Santa Catarina, constituída de 700 matrizes e que tinha sido acometida da DA 18 meses antes. Como medida de controle, foi iniciada a imunização das porcas entre os 70-90 dias de cada gestação, com vacina inativada oleosa, de fabricação nacional, seguindo as instruções do fabricante. Foram selecionadas, aleatoriamente, doze porcas da raça Duroc (D), dez porcas Hampshire (H), doze porcas Landrace (L) e dez porcas Large White (LW), todas com suas respectivas leitegadas.

As porcas tinham recebido uma, duas ou três vacinações contra a DA. Duas e 16 semanas após o parto, as porcas foram sangradas, por punção da veia cava anterior, para determinar o nível de anticorpos neutralizantes no soro. A duas, quatro, seis, oito, dez, doze, quatorze e 16 semanas de idade, foram escolhidos, aleatoriamente, dois leitões de cada porca e foi colhido sangue, como descrito anteriormente, para determinação de anticorpos. Os leitões não foram vacinados e foram desmamados com cinco semanas de idade.

Soros

Todos os soros colhidos foram centrifugados para sua clarificação, decplementados por aquecimento em banho-maria a 56°C, durante 30 minutos, e estocados a -20°C até o momento de sua utilização.

Vírus

O VDA utilizado no micro-teste de soroneutralização correspondeu à amostra virulenta 261/83, isolada no Laboratório de Virologia do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA).

Células indicadoras

Foram utilizadas células da linhagem contínua SK-6, derivadas de rim de suíno (Kasza et al. 1972).

Diluyente

Em todas as fases do teste de soroneutralização, o diluyente era constituído de uma mistura em partes iguais dos meios de cultura Ham F10 e 199, adicionado de 5% de soro bovino, penicilina G potássica (500 U/ml), sulfato de neomicina (20 µg/ml), sulfato de gentamicina (20 µg/ml) e micostatina (50 U/ml). O diluyente era sempre mantido gelado.

Teste de soroneutralização

Para determinar o nível de anticorpos neutralizantes no soro das porcas e dos leitões, foi utilizado o micro-teste de soroneutralização (SN) em placas, seguindo as normas gerais recomendadas por Hill et al. (1977). O VDA foi padronizado para conter 100 doses infectantes médias em 25 µl de diluyente. Os soros foram testados, sem diluir, até à diluição dupla de 1:128, em volumes de 25 µl. As misturas vírus-soro foram incubadas a 37°C durante 60 minutos, adicionadas de 200 µl de diluyente contendo entre 20-30.000 células indicadoras e incubadas em estufa a 37°C, contendo 5% de CO₂, e realizando-se a leitura do teste aos três e cinco dias. O título de anticorpos neutralizantes correspondeu à recíproca da mais alta diluição do soro que inibiu completamente o efeito citopático do VDA.

RESULTADOS

Das porcas vacinadas uma vez com vacina inativada oleosa contra a DA, três (18,8%) possuíam anticorpos neutralizantes duas semanas após o parto, com títulos que variaram entre 32 e 64; enquanto que, 16 semanas após o parto, quatro (44,4%), de nove porcas, também os possuíam, com títulos que variavam entre não diluído e 128. Nenhuma das porcas das raças H e LW reagiram com anticorpos neutralizantes após a primeira vacinação (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Todas as porcas vacinadas duas vezes contra a DA tinham anticorpos neutralizantes detectáveis às duas semanas (títulos entre não diluído e > 128) e às 16 semanas (títulos

entre 8 e ≥ 128) após o parto. Das quatorze porcas vacinadas três vezes, onze (78,6%) possuíam anticorpos às duas semanas após o parto, com títulos entre 32 e ≥ 128 , enquanto que, 16 semanas após o parto, nove (75%), de doze porcas testadas, os tinham com títulos entre 16 e ≥ 128 .

Anticorpos neutralizantes foram apenas encontrados em leitões de porcas com anticorpos, detectáveis na segunda semana de idade, persistindo até à décima ou à 12ª semana em leitões de porcas vacinadas uma vez, e, até o máximo de quatorze semanas, em leitões de porcas vacinadas duas ou três vezes (Tabelas 1, 2, 3 e 4).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que a imunização das porcas com vacina inativada oleosa contra a DA induziu uma resposta sorológica heterogênea, quando realizada apenas uma vez entre os 70-90 dias de gestação. Pensaert & Maes (1984) utilizaram também vacina inativada oleosa na imunização única de progênie de matrizes negativas, encontrando que 89,3%, 100%, 100%, 100% e 91,3% dos suínos vacinados entre oito e nove, dez, treze, entre 17 e 20, e 21 semanas de idade, respectivamente, desenvolviam anticorpos neutralizantes. Similarmente, McFerran et al. (1979) demonstraram resposta sorológica uniforme após a vacinação única de suínos de quatro a cinco semanas de idade, com vacina inativada oleosa.

A causa mais provável de nossos resultados parecia ser a limitada massa antigênica contida em uma dose das vacinas utilizadas. Este raciocínio é reforçado pela demonstração de que 100% das porcas que tinham recebido duas vacinações continham anticorpos neutralizantes no soro. Porém, nem todas as porcas vacinadas três vezes desenvolveram anticorpos até a 16ª semana após o parto.

Como as vacinas utilizadas durante este estudo pertenciam a diferentes lotes, não foi possível determinar se a falta de antigenicidade e a inconsistência da resposta imunológica humoral foi conseqüente à insuficiência na massa antigênica das vacinas em questão. A presença de leitões de matrizes que não respondem à vacinação, em um plantel infectado com o VDA, é indesejável, pois eles não adquirirão anticorpos através do colostro e serão susceptíveis a desenvolver a doença e, assim, iniciar um novo surto.

Porcas das raças H e LW, vacinadas uma vez, não possuíam anticorpos neutralizantes duas semanas após o parto, enquanto que 25% das porcas D e 50% das porcas L os possuíam.

A influência da raça sobre o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes, em suínos vacinados contra a DA, foi descrita por Rothschild et al. (1984), os quais observaram que suínos das raças LW e Chester White, quatro semanas após a vacinação com vírus vivo modificado, possuíam títulos de anticorpos neutralizantes mais elevados do que aqueles das raças D e L. Porém, os resultados desses autores e os apresentados neste trabalho não podem ser comparados, uma vez que o tipo de vacina utilizada e o estado fisiológico dos animais foram diferentes.

A demonstração de anticorpos neutralizantes de origem materna no soro de leitões, que foram alimentados com colostro de porcas sorologicamente positivas, demonstrou a importância da vacinação das matrizes para a proteção dos leitões durante as primeiras semanas de vida.

Os anticorpos de origem materna têm um papel modulador, não apenas da vacinação com vacinas vivas e inativadas, como também da infecção com o vírus virulento (Leeuw et al. 1982, Pensaert et al. 1982, McFerran et al. 1979).

Os títulos de anticorpos encontrados nos leitões duas semanas após o parto eram similares aos observados nas respectivas porcas na mesma época.

A determinação do tempo de persistência dos anticorpos neutralizantes de origem materna nos leitões do plantel de reprodutores estudados foi importante para poder definir a estratégia de testagem e seleção da progênie das matrizes vacinadas, com o objetivo final de se recuperar o material genético da própria granja, mas já livre da infecção do VDA.

O fato de encontrar-se alguns leitões, de matrizes vacinadas uma vez, que possuíam anticorpos de origem materna até a 12ª semana de idade, e de que, em muitos dos leitões de porcas vacinadas duas e três vezes, os anticorpos persistiam até doze e quatorze semanas de idade, permitiu inferir que, com 16 semanas de idade, toda a progênie deveria estar livre de anticorpos neutralizantes para o VDA.

Este fato foi comprovado, pois, em momento algum, encontrou-se que a progênie desta idade, ou em fase mais avançada de crescimento (resultados

não publicados) neste plantel, desenvolveu anticorpos neutralizantes no soro, indicando que o VDA não estava ciclando mais no plantel.

TABELA 1. Persistência de anticorpos neutralizantes de origem materna para o vírus da doença de Aujeszky em leitões de porcas da raça Duroc vacinadas contra a doença de Aujeszky com vacina inativada oleosa*.

Porcas	Nº de vacinações	Título SN nas porcas** (semanas após o parto)		Título SN nos leitões** (idade em semanas)								
		2	16	2	4	6	8	10	12	14	16	
119	1	—	NR	—	NR	—	—	—	—	—	—	—
120	1	—	ND	—	—	—	NR	—	NR	NR	NR	NR
1032	1	64	32	128	32	32	4	ND	ND	—	—	—
1044	1	—	NR	—	< 2	—	—	—	—	—	NR	—
05	2	16	16	16	4	—	—	—	NR	—	—	—
1033	2	>128	>128	16	ND	—	—	—	NR	—	—	—
1087	2	64	32	32	8	4	—	—	—	—	—	—
1119	2	8	8	16	8	2	—	—	ND	—	—	—
828	3	>128	32	4	ND	ND	—	—	—	—	—	—
877	3	64	NR	8	NR	ND	—	—	—	—	—	—
980	3	—	—	32	16	—	2	—	2	—	—	—
994	3	—	—	16	16	8	ND	ND	2	—	—	—
				32	16	4	ND	ND	—	—	—	—
				16	8	4	2	ND	ND	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	NR	—	—	—	—	—	—
				—	—	NR	—	—	—	—	—	—

* Vacinadas entre 70-90 dias de cada gestação.

** Título de anticorpos, expresso como a recíproca da maior diluição de soro que neutralizou 100 doses infectantes médias do VDA.

SN = Soro neutralizante; VDA = Vírus da doença de Aujeszky; NR = Não realizado; ND = Não diluído.

TABELA 2. Persistência de anticorpos neutralizantes de origem materna para o vírus da doença de Aujeszky em leitões de porcas da raça Hampshire vacinadas contra a doença de Aujeszky com vacina inativada oleosa*.

Porcas	Nº de vacinações	Título SN nas porcas** (semanas após o parto)		Título SN nos leitões** (idade em semanas)								
		2	16	2	4	6	8	10	12	14	16	
150	1	-	NR	-	-	-	-	-	-	-	-	-
321	1	-	-	-	-	-	<2	-	-	-	-	-
327	1	-	-	<2	-	-	-	-	-	-	-	-
328	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	2	32	32	32	8	2	2	ND	ND	2	-	-
271	2	ND	NR	ND	-	-	-	-	-	-	-	-
20	3	64	64	32	16	-	2	-	-	-	-	-
74	3	64	NR	64	32	16	2	-	-	-	-	-
1493	3	>128	>128	64	16	2	<2	ND	-	-	-	-
1576	3	-	-	64	4	16	4	ND	-	-	-	-
				32	4	2	ND	2	-	-	-	-
				32	16	2	4	-	ND	-	-	-
				-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Vacinadas entre 70-90 dias de cada gestação.

** Título de anticorpos, expresso como a recíproca da maior diluição de soro que neutralizou 100 doses infectantes médias do VDA.

SN = Soro neutralizante; VDA = Vírus da doença de Aujeszky; NR = Não realizado; ND = Não diluído.

TABELA 3. Persistência de anticorpos neutralizantes de origem materna para o vírus da doença de Aujeszky em leitões de porcas da raça Landrace vacinadas contra a doença de Aujeszky com vacina inativada oleosa*.

Porcas	Nº de vacinações	Título SN nas porcas** (semanas após o parto)		Título SN nos leitões** (idade em semanas)								
		2	16	2	4	6	8	10	12	14	16	
46	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
401	1	64	NR	NR	—	—	—	—	—	—	—	—
				64	8	8	4	2	2	—	—	—
562	1	32	32	8	4	2	NR	ND	—	—	—	—
				16	4	2	NR	ND	—	—	—	—
619	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
96	2	16	64	4	4	8	<2	—	ND	—	—	—
				4	2	8	4	—	ND	—	—	—
418	2	64	16	4	2	2	—	—	—	—	—	—
				4	2	2	—	—	—	—	ND	—
804	2	> 128	NR	64	8	<2	4	2	—	—	—	—
				32	16	16	4	ND	—	—	—	—
1228	2	32	64	8	4	2	<4	ND	—	—	—	—
				16	4	4	<4	—	—	—	—	—
698	3	> 128	64	32	8	4	2	ND	—	—	—	—
				16	8	4	4	2	—	—	—	—
800	3	> 128	64	32	4	16	4	ND	ND	ND	—	—
				32	16	16	4	2	—	—	—	—
1530	3	32	64	32	8	8	4	2	—	—	—	—
				32	8	8	4	2	—	—	ND	—
1531	3	64	>128	64	16	16	8	2	—	—	ND	—
				32	16	NR	<4	—	—	—	—	—

* Vacinadas entre 70-90 dias de cada gestação.

** Título de anticorpos, expresso como a recíproca da maior diluição de soro que neutralizou 100 doses infectantes médias do VDA.

SN = Soro neutralizante; VDA = Vírus da doença de Aujeszky; NR = Não realizado; ND = Não diluído.

TABELA 4. Persistência de anticorpos neutralizantes de origem materna para o vírus da doença de Aujeszky em leitões de porcas da raça Large White vacinadas contra a doença de Aujeszky com vacina inativada oleosa*.

Porcas	Nº de vacinações	Título SN nas porcas** (semanas após o parto)		Título SN nos leitões** (idade em semanas)								
		2	16	2	4	6	8	10	12	14	16	
05	1	—	NR	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1288	1	—	NR	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1495	1	—	—	—	—	—	<2	—	—	—	—	—
1514	1	—	NR	—	—	—	<2	—	—	—	—	—
133	2	32	16	32	8	8	—	—	NR	—	—	—
741	2	64	NR	32	16	8	—	—	NR	—	NR	—
892	2	16	NR	64	4	4	ND	—	ND	NR	—	—
1002	2	8	8	16	8	8	4	—	—	—	—	—
433	3	64	32	16	16	16	2	—	—	—	—	NR
1067	3	32	16	8	2	ND	—	—	—	—	—	—
				8	ND	2	—	—	—	—	—	—
				64	16	4	4	2	2	ND	—	—
				16	16	2	2	2	ND	—	—	—
				16	16	2	ND	ND	ND	—	—	—

* Vacinadas entre 70-90 dias de cada gestação.

** Título de anticorpos, expresso como a recíproca da maior diluição de soro que neutralizou 100 doses infectantes médias do VDA.

SN = Soro neutralizante; VDA = Vírus da doença de Aujeszky; NR = Não realizado; ND = Não diluído.

CONCLUSÕES

1. A vacinação única de porcas gestantes com vacina inativada oleosa, contra a DA, não induziu uma resposta imunológica humoral adequada, em termos de anticorpos neutralizantes, enquanto que ela foi eficiente na maioria das porcas vacinadas duas ou três vezes.

2. A testagem sequencial e sistemática do soro da progênie de matrizes vacinadas permitiu determinar o tempo de persistência dos anticorpos neutralizantes de origem materna para o vírus da DA, o qual é o ponto de partida para o desenvolvimento de uma estratégia de erradicação e aproveitamento do material genético de granjas que foram acometidas de surto da DA.

REFERÊNCIAS

- GUSTAFSON, D.P. Pseudorabies. In: LEMAN, A.D.; GLOCK, R.D.; MENGELING, W.L.; PENNY, R.H.C.; SCHOLL, E.; STRAW, B., ed. *Diseases of swine*. 5.ed. Ames, Iowa State University Press, 1981. p.209-23.
- HILL, H.T.; CRANDELL, R.A.; KANITZ, C.L.; MCADARAGH, J.P.; SEAWRIGHT, G.L.; SOLORZANO, R.F.; STEWART, W.C. Recommended minimum standards for diagnostic tests employed in the diagnosis of pseudorabies (Aujeszky's disease). In: AMERICAN ASSOCIATION OF VETERINARY LABORATORY DIAGNOSTICIANS. Annual meeting, 20., Minneapolis. *Proceedings*. Minneapolis, USDA, 1977. p.375-90.
- JAMES, J.E.; JAMES, D.M.; MARTIN, P.A.; REED, D.E.; DAVIS, D.L. Embryo transfer for conserving valuable genetic material from swine herds with pseudorabies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 183(5):525-8, 1983.
- KASZA, L.; SHADDUCK, J.A.; CHRISTOPHINIS, G.J. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci.*, 13: 46-51, 1972.
- LEEuw, P.W. de; WIJSMULLER, J.M.; ZANTINGA, J.W.; TIELEN, M.J.M. Intranasal vaccination of pigs against Aujeszky's disease. 1. Comparison of intranasal and parenteral vaccination with an attenuated vaccine in 12-week-old pigs from immunized dams. *Vet. Q.*, 4:49-56, 1982.
- MCFERRAN, J.B.M.; DOW, C.; MCCrackEN, R.M. Experimental studies in weaned pigs with three vaccines against Aujeszky's disease. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2:327-34, 1979.
- PENSAERT, M. & MAES, L. Parenteral and intranasal vaccination of fattening pigs against Aujeszky's disease (Pseudorabies). *Zentralbl. Veterinaermed. Reihe B.*, 31:682-9, 1984.
- PENSAERT, M.B.; VANDEPUTTE, J.; ANDRIES, K. Oronasal challenge of fattening pigs after vaccination with and inactivated Aujeszky's disease vaccine. *Res. Vet. Sci.*, 32:12-6, 1982.
- ROTHSCHILD, M.F.; HILL, H.T.; CHRISTIAN, L.L.; WARNER, C.M. Genetic differences in serum-neutralization titers of pigs after vaccination with pseudorabies modified live-virus vaccine. *Am. J. Vet. Res.*, 45:1216-8, 1984.