

# Uso de autovacunas frente a mycoplasmas en conejos de granja

S. Boucher<sup>1</sup>, L. Nouaille<sup>1</sup>, I. Albizu<sup>2</sup> y R. Baselga<sup>2</sup>

*Boucher S., Nouaille L., Albizu I., Baselga R.*

*1- Cabinet Veterinaire SCP NSBAGVC, Zac de la Buzeniére BP 539, 85505 Les Herbiers, Francia*

*2- Exopol. Polig. Rio Gállego, San Mateo de Gállego, 50840 Zaragoza, Spain.  
Tel. 976694525, exopol@exopol.com.*

## Resumen

En la patología de los conejos de granja destacan los procesos respiratorios y reproductivos que comprometen la salud y la productividad de la granja. En dos trabajos previos hemos puesto en evidencia el papel de los Mycoplasmas en estos procesos y en este trabajo hemos evaluado la validez del uso de las autovacunas en el control de los mismos.

Para ello en una explotación de 800 hembras se han vacunado a 428 gazapos y se han dejado como control a 3.622. Se observó una menor mortalidad en los gazapos vacunados y una disminución muy significativa ( $p < 0,01$ ) en las lesiones pulmonares observadas.

## Abstract

Respiratory and reproductive pathologies are the most frequent failures in rabbit farms, with great consequences on health and productivity. On two previous articles, we demonstrated the evidence of Mycoplasmas rol on these pathologies, and on this paper we evaluate the efficacy of autovaccines for their control.

The study was realised on a farm of 800 females. 428 young rabbits were vaccinated and 3.622 were considered as control. In vaccinated group mortality was lower, and there was a significant decrease ( $p < 0,01$ ) of pulmonary lesions.

## Introducción

En la patología de los conejos de granja destacan los procesos respiratorios y reproductivos (Boucher y Nouaille, 2002) que comprometen la salud y la productividad de la granja. En dos trabajos previos hemos puesto en evidencia el papel de los Mycoplasmas en procesos reproductivos y respiratorios (Boucher y cols., 2001; Villa y cols., 2001; Tabla 1), análogamente a lo que ocurre en roedores (Brown y Reyes 1991, Furr y cols. 1994). Concretamente la utilización de la inmunoperoxidasa permitió determinar la presencia de Mycoplasma pulmonis en un 43,1 % de los pulmones de animales con problemas respiratorios y en un 38% de los tractos reproductivos de hembras con problemas, frente a un 3% y un 0% de los animales sanos (respectivamente).

**Tabla-1**

<b>Presencia de <i>Mycoplasma pulmonis</i> en conejos</b>		
	Animales enfermos	Animales sanos
Respiratorios	43 %	3 %
Reproductivos	38 %	0 %

Por otro lado en las muestras recibidas en nuestro laboratorio hemos encontrado Mycoplasmas en alguna de las muestras en el 42% de los 98 casos recibidos con problemas reproductivos y en el 48% de los 333 casos con problemas respiratorios y en los que el veterinario solicitaba el estudio de Mycoplasmas.

En algunas especies de Mycoplasmas se ha demostrado la presencia de una capa de exopolisacáridos capsulares (CPS) envolviendo a la célula (Almeida et al., 1991, 1992; Tajima et al., 1985; Rurangirwa et al., 1995; Bansal et al., 1995, Niang et al., 1998 ) y aunque no ha sido investigado, podemos pensar que este CPS es un factor de virulencia que actúa del mismo modo que en algunas especies bacterianas evitando la fagocitosis por macrófagos y neutrófilos.

Para fagocitar las bacterias encapsuladas es necesario que el hospedador produzca anticuerpos frente al CPS que es muy poco inmunogénico. Los CPS se inmunopotencian uniéndolos covalentemente a proteínas transportadoras, tal y como se hace con *Haemophilus influenzae* en humana y se está investigando con *Streptococcus pneumoniae* (Ahmad 1999, Peltola 1999) y otras bacterias como *Staphylococcus aureus* (Fattom 1997), pero también se pueden inmunopotenciar con liposomas (Amorena y cols., 1994, Wong 1992, Garcon 1991, Brownlie 1993).

*M. pulmonis* es un patógeno muy importante en las colonias de roedores destinadas a la investigación y se han dedicado importantes esfuerzos en la consecución de una vacuna para su control (Lai et al., 1995). En este trabajo se describe la utilización de liposomas y exopolisacáridos de Mycoplasmas en la elaboración de autovacunas para la protección de granjas comerciales de conejos.

## **Material y métodos**

### **Cepas**

Las cepas de Mycoplasmas utilizadas se aislaron a partir de tejido pulmonar de animales con problemas respiratorios de las explotaciones en las que se valoró la autovacuina. Las cepas se aislaron tal y como describen Villa y cols (2001).

### **Purificación de los exopolisacáridos y elaboración de autovacunas**

Los exopolisacáridos fueron purificados esencialmente tal y como describen Amorena y cols (1994), aunque los tiempos de crecimiento de las cepas de Mycoplasmas se alargaron durante 5-6 días en Mycoplasmas broth suplementado con suero porcino (20%).

Para inmunopotenciar los exopolisacáridos se utilizaron liposomas elaborados siguiendo la técnica de "Dry reconstituted liposomes" (Amorena y cols, 1994). Para resuspender los liposomas liofilizados se utilizó hidróxido de aluminio comercial (Al(OH)<sub>3</sub>; Rehydragel, Reheis, Dublín).

## Descripción de la explotación

El ensayo se llevó a cabo en una granja situada Mouchamps, Francia. La granja es una explotación de ciclo cerrado con una capacidad de 800 hembras y arrastraba un problema crónico de neumonías desde hace varios años.

Las vacunaciones se hicieron en dos maternidades: una semiintensiva y la otra cerrada. Los gazapos se cebaron posteriormente en una explotación semi-intensiva independiente de las maternidades.

## Procedimiento vacunal

Tal y como describen Boucher y Nouaille (2002) los animales se vacunaron en los días 1 y 18 de vida con 0,5cc de la autovacuna. Se vacunó a 428 gazapos dejando 3.622 gazapos como control. La elección del grupo vacunado se realizó mediante sorteo de las hembras en el momento de la vacunación y se vacunó a toda la camada sin selección por sexos.

## Evaluación clínica

Los gazapos de cada grupo se mantuvieron en la misma nave y se estudiaron las lesiones pulmonares encontradas en las bajas que se produjeron y en algunos animales tomados aleatoriamente por un investigador que no conocía a que grupo pertenecía cada uno de los animales. Asimismo se anotaron las bajas.

## Resultados

Los resultados obtenidos en el estudio se muestran en la Tabla 2.

Tabla-2

<b>Mortalidad y lesiones pulmonares en los conejos muertos y sacrificados</b>				
	Nave vacunados	Semi-intensivo vacunados	Nave no Vacunados	Semi-intensivo no vacunados
Destetados	251	177	1732	1890
% Mortalidad	4,4	3,9	6,1	
Autopsias de las bajas / animales con lesiones pulmonares	11/2	7/0	89/77	76/51
Sacrificados fin de lote / animales con lesiones pulmonares	10/1	10/2	5/5	5/5

## Discusión

En medicina humana se emplean sistemáticamente las vacunas basadas exclusivamente en los CPS de las bacterias frente a las meningitis bacterianas. Sin embargo los CPS son muy poco inmunogénicos por lo que en algunas de estas vacunas los CPS están unidos covalentemente a proteínas transportadoras, sin embargo esta solución no resulta factible en veterinaria por su elevado coste.

Los liposomas se han utilizado para vehicular muchas drogas diferentes, para vehicular antígenos T-dependientes (Gregoriadis, 1999) y, como en este caso, T-independientes (Garcon 1991, Pietrobon 1994) y además se han utilizado con éxito en ensayos de campo frente a *Streptococcus suis* (Morillo y cols.2002) e infecciones experimentales con

*Staphylococcus aureus* (Amorena y cols. 1994). La preparación de los liposomas es muy sencilla y económica y el utilizar liposomas liofilizados facilita la conservación y transporte de las autovacunas elaboradas.

En otras especies, por ejemplo en porcino, *Mycoplasma infecta* a los neonatos en la primera semana de vida y las vacunaciones se realizan en edades muy tempranas. Nuestras primeras experiencias (datos no mostrados) también indicaban la conveniencia de realizar una vacunación temprana en conejos y por esta razón se seleccionaron los días 1 y 18.

Los resultados obtenidos con este protocolo vacunal demuestran que aunque el porcentaje de bajas no fue significativamente menor, en los animales necropsiados y sacrificados el porcentaje de lesiones pulmonares encontradas entre los animales vacunados fue mucho menor ( $p < 0,001$ ).

En condiciones prácticas de campo no parece tener mucho sentido vacunar a todos los gazapos nacidos en una explotación, sin embargo sí creemos interesante el utilizar estas autovacunas sobre toda la reposición.

## Bibliografía

AHMAD H, CHAPNICK EK. Conjugated polysaccharide vaccines. *Infect Dis Clin North Am* 1999; 13: 113-133.

ALMEIDA,-RA; ROSENBUSCH,-RF, Capsulelike surface material of *Mycoplasmas dispar* induced by in vitro growth in culture with bovine cells is antigenically related to similar structures in vivo., *Infection-and-Immunity*. 1991, 59: 9, 3119-3125.

ALMEIDA,-RA; WANNEMUEHLER,-MJ; ROSENBUSCH,-RF, Interaction of *Mycoplasmas dispar* with bovine alveolar macrophages., *Infection-and-Immunity*. 1992, 60: 7, 2914-2919

AMORENA B, BASELGA R, ALBIZU I. Use of liposome immunopotentiated exopolysaccharide as a component of an ovine mastitis staphylococcal vaccine. *Vaccine*, 1994, 12: 243-249.

BANSAL-P; ADEGBOYE-DS; ROSENBUSCH-RF, Immune responses to the capsular polysaccharide of *Mycoplasmas dispar* in calves y mice., *COMP-IMMUNOL-MICROBIOL-INFECT-DIS*. 18/4 (259-268) 1995

BOUCHER S. y NOUAILLE L., *Maldies des Lapins*, Edition France Agricole, 2. Edition, 2002.

BOUCHER-S; GRACIA-E; VILLA-A; FERNANDEZ-A; NOUAILLE-L; BRIFFAUD-MA; ALBIZU-I; BASELGA-R Pathogens in the reproductive tract of farm rabbits. *Veterinary-Record*. 2001, 149: 22, 677-678.

BROWN,-MB; REYES,-L, Immunoglobulin class- y subclass-specific responses to *Mycoplasmas pulmonis* in sera y secretions of naturally infected Sprague-Dawley female rats. *Infection-and-Immunity*. 1991, 59: 6, 2181-2185.

BROWNLIE RM, BRAHMBHATT HN, WHITE DC, FOUNTAIN MW, ROHDE M, WEHLY J, TIMMIS KN. Stimulation of secretory antibodies against *Bordetella pertussis* antigens in the lungs of mice after oral or intranasal administration of liposome-incorporated cell-surface antigens. *Microb Pathog*. 1993; 14: 149-160.

FATTOM AI, NASO R. Vaccines for *Staphylococcus aureus* infections. *New Generation Vaccines*, Ed. M. Levine et al. Marcel Dekker Inc. New York. 1997; Chapter 62.

FURR, PM, SARATHCHANDRA, P, HETHERINGTON, CM, TAYLOR-ROBINSON, D, Site of localization of *Mycoplasmas pulmonis* y *Mycoplasmas hominis* in the genital tract of fema-

le mice demonstrated by culture y scanning y immuno-electron microscopy. *Int J Exp Pathol*, 1994, 76, 2, 131-43.

GARCON NM, SIX HR. Universal vaccine carrier. Liposomes that provide T-dependent help to weak antigens. *J. Immunol.* 1991; 146: 3697-3702.

GREGORIADIS G, MCCORMACK B, OBRENOVIC M, SAFFIE R, ZADI B, PERRIE Y. Vaccine entrapment in liposomes. *11: Methods* 1999 Sep;19(1):156-62

LAI, WC, BENNETT, M, PAKES, SP, MURPHREE, SS Potential subunit vaccine against *Mycoplasma pulmonis* purified by a protective monoclonal antibody. *Vaccine*, 1995, 9, 3, 177-84

MORILLO, A., GASCÓN, A., ALBIZU, I., BASELGA, R. Evaluación de autovacunas frente a *Streptococcus suis* basadas en exopolisacáridos capsulares. *Anaporc* 2002, 228: 1-7.

NIANG M, ROSENBUSCH RF, ANDREWS JJ, KAEBERLE ML, Demonstration of a capsule on *Mycoplasmas ovipneumoniae.*, *Am J Vet Res* 1998 May;59(5):557-562.

PELTOLA H. Prophylaxis of bacterial meningitis. *Infect Dis Clin North Am* 1999 13: 685-710.

PIETROBON, PJF, GARCON NM, LEE CH, SIX HR. Liposomes that provide T-dependent help to weak antigens (T-independent antigens). *Immunomethods*, 1994; 4: 236-243

RURANGIRWA-FR; WAMBUGU-A; KIHARA-SM; MCGUIRE-TC, A *Mycoplasmas* strain F38 growth-inhibiting monoclonal antibody (WM-25) identifies an epitope on a surface-exposed polysaccharide antigen., *Infect-Immun.* 1995 Apr; 63(4): 1415-20

VILLA, A, E. GRACIA, A. FERNÁNDEZ, I. ALBIZU, R. BASELGA. The detection of mycoplasmas in the lung of rabbits with respiratory disease. *Veterinary Record*, 2001, 23, 148, 788-9

WONG JP, CHERWONOGRODZKY JW, DINNO VL, STADNYK LL, KNODEL MH, DININNO VL. Liposome potentiation of humoral immune response to lipopolysaccharide y O-polysaccharide antigens of *Brucella abortus*. *Immunology* 1992; 77: 123-128.