

# Efecto de una vacuna vectorial frente a la enfermedad de Gumboro sobre la bolsa de Fabricio, los parámetros productivos y las características de la carne en pollos broilers

**Miguel Alonso Castro<sup>1</sup>, David Merino Cabría<sup>1</sup>, Domingo Fernández García<sup>2</sup>, Javier Torrubia Díaz<sup>3</sup>, Roberto Herreras Viejo<sup>4</sup>, José Fernández Revuelta<sup>5</sup>, Javier Mateo Oyagüe<sup>2</sup>, Ana Carvajal Urueña<sup>1\*</sup>**

## Introducción

La bursitis infecciosa aviar o enfermedad de Gumboro – IBD– es una importante enfermedad vírica y contagiosa de los pollos causada por un virus de la familia *Birnaviridae*. El principal órgano diana del virus de la enfermedad es la bolsa de Fabricio. La replicación viral en la bolsa se asocia a inflamación y atrofia de este órgano y consecuentemente a diferentes grados de inmunosupresión –Alegre Millán y col., 2012.

Las consecuencias económicas de la enfermedad de Gumboro en la producción de broilers son importantes. Aunque existen pérdidas directas asociadas a la enfermedad clínica, las pérdidas económicas asociadas al efecto de inmunosupresión son particularmente relevantes. Entre los efectos de esta inmunosupresión cabe destacar el empeoramiento de diferentes índices productivos, el incremento de los gastos en tratamientos y vacunación o el incremento de los gastos asociados a la aplicación de medidas de limpieza y desinfección. Además, estos efectos se extienden hasta los mataderos y plantas de procesamiento donde esta infección se ha asociado –Alegre Millán y col., 2012–, a un aumento del número de bajas durante el transporte, un incremento en los decomisos totales o parciales, una mayor proporción de canales de peor calidad o una menor uniformidad de los lotes.

La principal herramienta de control frente a la bursitis infecciosa aviar es la vacunación –Lukert & Saif, 1997;

Mahgoub, 2012; Müllery col., 2012–. En la actualidad, para la vacunación de broilers existen en el mercado vacunas vivas atenuadas con diferentes grados de atenuación, vacunas de inmunocomplejos y vacunas vectoriales. El objetivo de este trabajo ha sido la evaluación del efecto de la vacuna vectorial Vaxxitek®HVT+IBD –Merial Laboratorios– aplicada *in ovo*, sobre la bolsa de Fabricio y el bazo, así como sobre diferentes parámetros productivos estimados en granja y en matadero y sobre las características de la carne, comparándolos con los obtenidos en lotes vacunados con una vacuna comercial viva de inmunocomplejos frente a la enfermedad de Gumboro.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Selección de explotaciones

El presente estudio se ha realizado durante el año 2012, en explotaciones localizadas en diferentes provincias de Castilla y León y con un historial de casos clínicos de enfermedad de Gumboro. Se seleccionaron 24 lotes de broilers que fueron distribuidos en dos grupos, de 12 unidades cada uno. A los animales de uno de ellos –grupo control o C– se les vacunó *in ovo* con una vacuna viva de inmunocomplejos, en la incubadora, mientras que los del segundo –grupo Vaxxitek o grupo V– fueron vacunados *in ovo* con Vaxxitek®HVT+IBD. Ambas vacunaciones fueron realizadas por personal técnico de la empresa colaboradora.

### Recogida y procesamiento de las muestras

Cada uno de los 24 lotes incluidos en el estudio fue muestreado en dos ocasiones, a 22 y 40–42 días de vida. En cada una de estas dos visitas se determinó el peso medio

<sup>1</sup> Dpto. Sanidad Animal. Universidad de León.

<sup>2</sup> Dpto. Higiene y Tecnología de los Alimentos. Universidad de León.

<sup>3</sup> Merial Laboratorios S.L.

<sup>4</sup> Comercial Oblanca S.A.

<sup>5</sup> Dpto. Producción Animal. Universidad de León.

\*email: ana.carvajal@unileon.es

individual -pesado en granja de 20 pollos, de 3 en 3, empleando una báscula portátil- y se seleccionaron al azar 10 pollos. Estos fueron sacrificados, determinándose el peso individual y se extrajeron, pesaron y fotografiaron la bolsa de Fabricio y el bazo. Además, en la visita realizada a los 22 días de edad, se obtuvo sangre de 20 animales elegidos al azar mientras que en la realizada a 40-42 días de vida se valoró la presencia de lesiones en las patas y/o en la pechuga, así como el estado de la cama. Finalmente, de cada uno de los lotes se recogieron en el matadero, al cabo de 3 y 5 horas tras el sacrificio, entre 12 y 21 canales -20 como número más habitual-.

Las muestras de sangre recogidas fueron procesadas de forma inmediata para la obtención de suero. Para la detección de anticuerpos frente al virus de Gumboro se empleó un test comercial que reconoce mayoritariamente anticuerpos dirigidos frente a la proteína VP2 - ProFlock®IBD Plus, Synbiotics-.

Para cada lote, los bazos y bolsas de Fabricio obtenidos de tres individuos en cada uno de los muestreos fueron conservados en formalina para la realización del estudio histológico, mientras que el resto de muestras fueron congeladas a -20° C. El estudio histológico se llevó a cabo en las muestras de bolsa de Fabricio recogidas a 40-42 días. Para ello, tras la inclusión en parafina, se realizaron cortes histológicos, tinción con hematoxilina y eosina y observación al microscopio, determinándose el grado de depleción linfocitaria (<20%=1, 20-40%=2, 40-60%=3, 60-80%=4 y >80%=5), así como el diámetro medio de los folículos y el número medio de folículos por mm<sup>2</sup>.

Las canales recogidas en el matadero se pesaron y fueron mantenidas en cámara de refrigeración a 4°C hasta el momento del análisis. Se determinó el color en la pechuga en el día del sacrificio -día 1, entre 4 y 10 horas *post mortem*- y una semana después -día 7-, en tres puntos de la pechuga -proximal, medio y caudal- siguiendo la metodología descrita por Honikel -1997-, con colorímetro de reflectancia CM-500 -Minolta, Osaka, Japón- con iluminante D65, 10° de ángulo observador y 8 mm de diámetro de la ventana de medida, modo de medida SCE -sin componente especular- y midiendo por triplicado. Para la determinación del color se seccionó lateralmente la piel que cubre la pechuga, se levantó y se colocó el colorímetro sobre la superficie muscular, volviendo a colocarla en su posición original. Inmediatamente después de la medida del color, de cada canal se extrajo una pechuga para su cocción en agua caliente -75 °C durante 40 min.- y determinación de la dureza siguiendo la metodología descrita por Honikel -1997-. Esta medida se llevó a cabo sobre tres prismas de 1 cm<sup>2</sup> de sección transversal y de 3 cm de largo obtenidos del músculo pectoral torácico -cortado en dirección paralela a las fibras musculares-, mediante un método mecánico de corte o cizalla con un texturómetro -TA-XT2i, Texture Technologies Corporation, Scarsdale, NY, EE.UU.- equipado con una cuchilla Warner-Bratzler de borde romo.

## Recogida de datos y análisis estadístico

Los parámetros productivos fueron estimados, a nivel de lote, a partir de la información proporcionada por la empresa colaboradora. Igualmente, en el matadero se obtuvo información relativa a cada uno de los grupos del estudio. Toda la información fue recopilada en una hoja de cálculo e importada a los programas Epi Info para Windows™ versión 7.0.8.0 -CDC, Atlanta, EE.UU.- y SPSS® Statistics versión 19 para el análisis estadístico. Para la comparación de proporciones entre ambos grupos de animales o lotes definidos por el tipo de tratamiento se realizó la prueba de la Chi<sup>2</sup> mientras que para la comparación de medias se empleó el test de T de Student o la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Previa a esta comparación de medias, se realizó el test de Levene para comprobar la igualdad de las varianzas. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo para un nivel de significación del 95% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad, las vacunas más utilizadas para el control de la enfermedad de Gumboro en broilers son las vivas de inmunocomplejos y las vectoriales, que presentan como importante ventaja la posibilidad de poder completar la inmunización mediante una única administración realizada *in ovo* -Müller y col., 2012-. Además, las vacunas vectoriales, teóricamente, no provocan lesiones en la bolsa de Fabricio y, consecuentemente, pueden favorecer el mantenimiento de un estatus sanitario óptimo en las aves. El objetivo del presente trabajo ha sido la evaluación del efecto sobre los principales órganos linfoides, el bazo y la bolsa de Fabricio, sobre la productividad y las propiedades de la carne de una vacuna vectorial comercial, Vaxxitek®HVT+IBD en comparación con vacunas de inmunocomplejos cuando ambas se emplean *in ovo* y en una zona donde teóricamente la presión de infección es elevada.

Los principales resultados obtenidos en los parámetros determinados en granja a 22 y 40-42 días se muestran en la tabla 1. Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas en el peso de los animales a 22 días de edad, siendo significativamente más elevado en los lotes vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD, el peso de los animales a 40-42 días no difirió entre los dos grupos de tratamiento. Algo similar ocurrió con el peso del bazo, que fue similar entre ambos grupos a 40-42 días. Además, de acuerdo a lo observado por Garcés Narro y col. - 2012 -, los valores del peso relativo de este órgano con respecto al peso del animal se mantuvieron estables entre 20 y 40-42 días con independencia del tratamiento vacunal recibido. Por el contrario, se observaron importantes diferencias en lo que respecta al peso de la bolsa de Fabricio en función del tratamiento vacunal. El peso de este órgano fue significativamente más alto en los animales vacu-

Tabla 1. Valores promedio de las estimaciones de peso individual, peso de la bolsa de Fabricio y peso del bazo en los pollos de 22 y 40-42 días de edad e indicadores de depleción linfoide en la bolsa de Fabricio a 40-42 días en los vacunados con vacuna control de inmunocomplejos - lotes Control - y en los vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD

Lotes	Pollos de 22 días de edad					Pollos de 40-42 días de edad							
	Peso individual, g	Bolsa de Fabricio		Bazo		Peso individual, g	Bolsa de Fabricio					Bazo	
		Peso, g	Peso relativo	Peso, g	Peso relativo <sup>(1)</sup>		Peso, g	Peso relativo <sup>(1)</sup>	Depleción linfoide <sup>(2)</sup>	Diámetro foliculos, mm	Nº medio foliculos/mm	Peso, g	Peso relativo
Control	665,49*	0,97*	1,5*	0,64*	1,0	2.023,46	0,87*	0,4*	3,43	612,43*	9,58*	2,30	1,1
Vaxxitek	741,4*	1,33*	1,8*	0,76*	1,0	2.055,49	1,87*	0,9*	2,13	761,43*	5,50	2,36	1,2

(\*) Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en la comparación del parámetro considerado

(1) El peso relativo de la bolsa de Fabricio o del bazo se estimaron como el cociente entre el peso de cada uno de estos órganos, expresado en gramos, dividido por el peso corporal del mismo individuo expresado en kg.

(2) La depleción linfoide se valoró en una escala semicuantitativa (1= <20%, 2= 20-40%, 3= 40-60%, 4= 60-80% y 5= >80%).

vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD en ambos muestreos, siendo más notables las diferencias en los animales de 40-42 días, evidenciando que este órgano no se ve afectado tras la administración de la vacuna vectorial. Un efecto similar sobre el peso de la bolsa de Fabricio a 21 y 35 días de edad fue descrito por Silke y col. -2011- tras la vacunación con Vaxxitek®HVT+IBD. Más aún, el estudio del peso relativo de este órgano con respecto al peso corporal permitió demostrar una involución más rápida del mismo en los animales vacunados con la vacuna control de inmunocomplejos en concordancia con lo descrito por Garcés Narro y col. -2012- al comparar la vacuna vectorial Vaxxitek®HVT+IBD con vacunas de inmunocomplejos en una zona de baja presión de infección. Aunque no se llevaron a cabo medidas con el fin de evaluar los efectos de ambas vacunas sobre el número de células B y T intrabursales o circulantes, numerosos trabajos han señalado que la atrofia y regresión temprana de este órgano están directamente relacionados con la inmunosupresión -Alegre Millán y col., 2012-.

Para cada grupo experimental, los valores mostrados se han obtenido como el promedio de las estimaciones medias en cada uno de los 12 lotes evaluados. El peso relativo de la bolsa de Fabricio o del bazo se estimaron como el cociente entre el peso de cada uno de estos órganos, expresado en gramos, dividido por el peso corporal del mismo individuo expresado en kg. La depleción linfoide se valoró en una escala semicuantitativa (1= <20%, 2= 20-40%, 3= 40-60%, 4= 60-80% y 5= >80%). El diámetro medio de los foliculos linfoides se expresó en mm.

La determinación de anticuerpos frente al virus de Gumboro mediante el ELISA comercial ProFlock®IBD Plus -Synbiotics- demostró un adecuado nivel de anticuerpos antiVP2 a los 22 días en la gran mayoría de los lotes vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD. Tan solo en uno de los lotes tratados con esta vacuna se observaron títulos bajos de anticuerpos -título superior a 1:1000 en 4 de 20 muestreados-. Por el contrario, los resultados fueron mucho más variables en los lotes vacu-

vacunados con vacuna control de inmunocomplejos y tan solo en el 50% de los 12 lotes control se alcanzó un 80% de individuos seropositivos -títulos superiores a 1:1000-. Este hecho puede ser explicado por las características de la vacuna -lenta liberación del virus vacunal a partir de los complejos formados con el factor neutralizante del virus- así como por la técnica ELISA empleada que detecta particularmente los anticuerpos frente a la proteína VP2 -Prandini y col., 2008.

Teniendo en cuenta las diferencias observadas en lo que respecta al peso absoluto y relativo de la bolsa de Fabricio entre ambos grupos definidos por la vacuna administrada, se decidió valorar histológicamente el grado de depleción linfoide de la bolsa de Fabricio a 40-42 días - tabla 1 -. La depleción linfoide fue, como media de 2,1 (2 = 20-40% de los foliculos con depleción celular) para los vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD y de 3,4 (3 = 40-60% de los foliculos con depleción celular) para los controles vacunados con vacuna control convencional, estando las diferencias muy próximas a la significación estadística. Además, el diámetro medio de los foliculos fue significativamente superior en los animales vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD mientras que el número medio de foliculos por mm<sup>2</sup> fue muy superior en los controles vacunados con la vacuna de inmunocomplejos -figura 1.

Empleando la información proporcionada por la empresa integradora, se estimaron los parámetros productivos para cada uno de los lotes en estudio. Se determinó la mortalidad, la ganancia media diaria, el índice de conversión real y a 2,5 kg y el factor europeo de eficacia productiva -FEFP-. Como se muestra en la tabla 2, los parámetros medios estimados a partir de los valores obtenidos en los 12 lotes vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD fueron en todos los casos más beneficiosos que los estimados para los lotes vacunados con vacuna control de inmunocomplejos. Sin embargo, las diferencias no alcanzaron en ningún caso la significación estadística, probablemente a consecuencia de la elevada variabilidad entre los lotes de cada uno de los grupos. Cabe destacar que se produjeron 34.229 bajas entre 320.688 pollos vacunados con vacuna





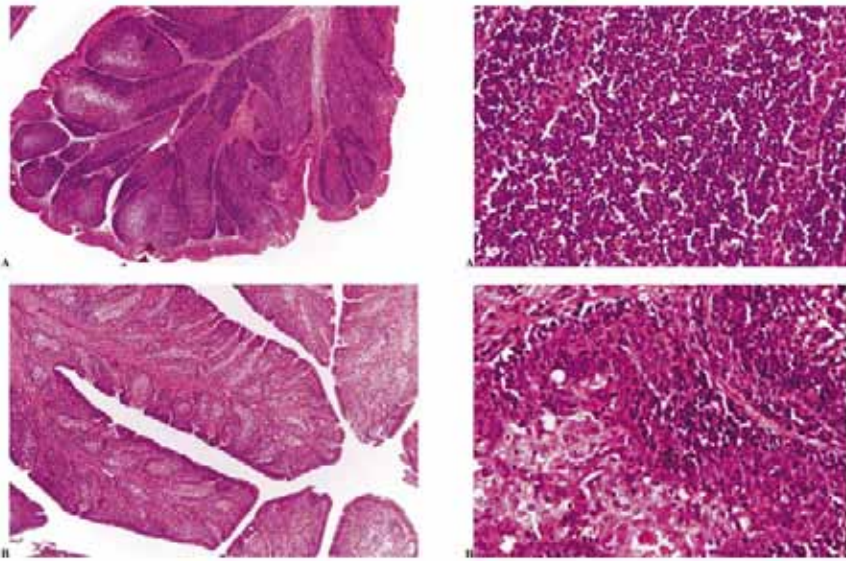


Figura 1: Microfotografías de cortes histológicos (40x y 400x) de la bolsa de Fabricio de pollos de 40-42 días de edad; A: depleción linfoide inferior al 20% en un pollo vacunado con Vaxxitek®HVT+IBD; B: depleción linfoide severa (>80%) e infiltración histiocitaria en un pollo vacunado con vacuna control de inmunocomplejos.

control de inmunocomplejos frente a 39.583 bajas entre 479.670 pollos vacunados con la vacuna vectorial y que el índice de conversión fue, como media,  $1,964 \pm 0,948$  en los lotes vacunados con Vaxxitek y de  $1,984 \pm 0,149$  en los lotes vacunados con vacuna control de inmunocomplejos, demostrándose una tendencia estadística hacia valores más bajos tras la vacunación con la primera ( $p = 0,155$ ). Las diferencias observadas para el resto de parámetros productivos valoradas fueron menores.

En cualquier caso, el análisis económico, tomando un coste de 0,28 céntimos por pollo, un precio del pienso de 320 €/t y teniendo en cuenta las diferencias en el coste de la vacuna aplicada en ambos grupos experimentales, determinó un coste medio de 0,778 €/kg de pollo para el grupo vacunado con vacuna de inmunocomplejos y de 0,764 €/kg para el vacunado con la vacuna vectorial Vaxxitek®HVT+IBD. El coste estimado en el grupo control por pollo de 2,5 kg producido fue de 1,946 €, frente a 1,909 € en el grupo vacunado con la vacuna vectorial.

En el matadero se recogió información sobre un total de 242.022 pollos procedentes de lotes vacunados con Vaxxitek®HVT-IBD y de 106.711 pollos de lotes vacunados con vacuna de inmunocomplejos. La mortalidad en el transporte fue de 0,86% en el grupo vacunado con la vacuna vectorial y de 0,69% en el vacunado con la de inmunocomplejos. La proporción de canales clasificadas como primera fue del 84,6% en los pollos vacunados con vacuna vectorial, frente al 82,4% en los vacunados con vacuna de inmunocomplejos, mientras que la situación fue inversa en lo que respecta a la proporción de canales clasificadas como segunda, 15,3% y

17,1%, respectivamente. Estas diferencias alcanzaron la significación estadística cuando el análisis se llevó a cabo de forma global, empleando el total de los datos. Sin embargo y en concordancia con lo observado durante el análisis de los datos productivos a nivel de granja, existió una gran variabilidad entre lotes. La merma en matadero fue como media del 28,8% en las canales de pollos de los lotes vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD y ligeramente superior, del 29,2% en los pollos vacunados con vacuna de inmunocomplejos. Sin embargo, las diferencias observadas no alcanzaron en este caso la significación estadística.

Finalmente, en un total de 238 canales de pollos vacunados con la vacuna de inmunocomplejos y 230 canales de los vacunados con vacuna vectorial se evaluaron los dos atributos más importantes de la calidad sensorial de la carne de pollo, la apariencia y la textura -Fletcher, 2002-. La apariencia condiciona la decisión del consumidor de elegir la carne en el momento de la compra y viene determinada fundamentalmente por el color de la piel y/o de la carne y la presencia de defectos como hemorragias, hematomas o decoloraciones. Sin embargo, la valoración de un determinado color por el consumidor no siempre es la misma, ya que depende en gran medida de la zona geográfica y del tipo de consumidor que se considere. Por otra parte, la terneza de la carne de pollo es una característica apreciada a la hora del consumo, valorándose negativamente las carnes duras ya que la de ave se asocia a carnes blandas.

Los valores de los parámetros del color de las pechugas de pollo crudas - $L^*$ , luminosidad;  $a^*$ , índice rojo-verde;  $b^*$ , índice amarillo-azul- determinados en el día del sacrificio y una semana después se muestran en la tabla 3. La luminosidad fue bastante uniforme en ambos grupos de tratamiento, al igual que el índice rojo-verde medio, aunque en este caso el tiempo de medida afectó a este valor, haciéndolo aumentar - se acercó a valores de 0 - tras 7 días de almacenamiento en refrigeración. Por el contrario, el índice amarillo-azul fue moderadamente superior en las pechugas de los pollos vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD en comparación con el de los pollos vacunados con la vacuna control de inmunocomplejos - $p < 0,13$ . Este parámetro se incrementó, al igual que el índice rojo-verde, tras el almacenamiento de las pechugas en condiciones de refrigeración durante una semana. En cualquier caso y, en coincidencia con Garcés Narro y col. -2012- las diferencias de color entre ambos grupos definidos por el tratamiento fueron mínimas y probablemente difíciles de apreciar por el ojo humano.

Tabla 2. Valores promedio de los parámetros productivos determinados en granja y en matadero en los lotes vacunados con vacuna control de inmunocomplejos (lotes Control) y en los lotes vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD (&)

Lotes	Resultados productivos en la explotación						Resultados productivos en matadero			
	Mortalidad media, %	Peso medio final, g	Aumento medio diario, g	Índice de conversión real	Índice de conversión a 2,5 kg	FEEP	Clasificación de las canales			Merma media, %
							% de Primera	% de Segunda	% de Tercera	
Control	9,63	2,477	56,46	1,984	1,992	260,49	82,4*	17,1*	0,36	29,2
Vaxxitek	7,49	2,528	58,31	1,964	1,954	276,60	84,6*	15,3*	0,32	28,8

(&) Los resultados productivos en granja se han obtenido como el promedio de las estimaciones realizadas en cada uno de los 12 lotes evaluados. La proporción de canales como primera, segunda y tercera se determinó empleando los datos globales del total de pollos de cada uno de los dos grupos experimentales que fueron monitorizados en el matadero. (\*) Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en la comparación del parámetro considerado.

Tabla 3. Valores promedio de los parámetros de color (medidos en el día 1 y día 7 *post mortem*) y de textura determinados en las canales vacunados con vacuna de inmunocomplejos (lotes Control) y en los vacunados con Vaxxitek®HVT+IBD.

Lotes	L*			a*			b*			Peso canal fría, g	Fuerza máxima, N	Energía de ruptura, J
	Media		p (tiempo)	Media		p (tiempo)	Media		p (tiempo)			
	Día 1	Día 7		Día 1	Día 7		Día 1	Día 7				
Control	52,57	52,44	0,768	-1,88 <sup>a</sup>	-0,82 <sup>b</sup>	<0,0001	5,93	6,79	0,004	1,885	42,29	287,42
Vaxxitek	52,68	52,46		-1,75 <sup>a</sup>	-0,82 <sup>b</sup>		6,36	7,24		1,825	44,79	317,61
p (vacuna)	0,910			0,497			0,129			0,436	0,589	0,494

(a,b) Para cada parámetro del color, los valores de las filas con distinta letra muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ; prueba de Tukey)

La evaluación de la terneza mostró una gran dispersión de los datos, tanto entre los lotes de cada uno de los grupos por tratamiento como dentro de cada uno de los lotes, sin que pudiera establecerse ninguna relación en función de la vacuna recibido por los animales. Esta gran variabilidad puede ser atribuida a factores como la velocidad de crecimiento muscular, las condiciones de sacrificio y la variación en el tiempo *post mortem* medida. Se ha descrito que, tras el establecimiento del *rigor mortis*, la terneza en la carne de pollo refrigerada varía en gran medida con el tiempo -Kraise y col., 2007-, particularmente entre las 8 y 24 horas *post mortem*, a consecuencia de fenómenos madurativos -proteolisis.

donde la presión de infección por el virus de la enfermedad de Gumboro es elevada se asocia a una ligera mejoría en los parámetros productivos a nivel de granja y de matadero en comparación con los obtenidos al emplear, con idéntico protocolo, vacunas de inmunocomplejos. A nivel de granja, esta mejora se traduce en una diferencia por pollo de 2,5 kg de 0,036 €. Además, el tratamiento vacunal empleado no afectó significativamente a las principales características que definen la calidad sensorial de la carne, el color y la textura. Por el contrario, se demuestra la mejor evolución de la bolsa de Fabricio, un importante órgano linfoide, en las aves vacunadas con la vacuna vectorial en comparación con las que recibieron vacuna de inmunocomplejos.

## Conclusiones

El presente estudio demuestra que el empleo de la vacuna vectorial Vaxxitek®HVT+IBD aplicada *in ovo* en una población

## Bibliografía

(Se enviará a los interesados que la soliciten)

R

