Mecanismo de acción de vacunas vectoriales HVT+IBD*, vacunas vectoriales HVT-ND y de inmunocomplejos frente a IBD

Michel Bublot, Merial R&D**

Merial Avian Forum 2013, Estambul 17-19 Abril

Introducción

Para entender cómo funcionan las vacunas es importante conocer la biología del agente de que se trate y los diferentes tipos de vacunas.

La bolsa de Fabricio y la enfermedad de Gumboro

La bolsa de Fabricio es un órgano linfoide primario, crítico para el normal desarrollo de la producción de anticuerpos. Es un órgano único en las aves y desde hace más de 50 años se sabe que es el punto primario para la linfopoyesis de las células B y en donde se producen los linfocitos B maduros, responsables de la diversidad de anticuerpos. También actúa como órgano linfoide secundario, ya que a partir de los linfocitos B, dará lugar a los plasmocitos y a la producción de anticuerpos -Jeurissen et al., 1994; Davison et al. 2008-.

Su involución comienza a las 8-10 semanas y en algunos casos puede llegar a verse hasta los 6-7 meses.

La enfermedad de Gumboro es una de las enfermedades económicamente más importantes que afectan a las aves producidas comercialmente en todo el mundo -Müller et al., 2012-.

El virus de la enfermedad de Gumboro -IBDV- es un virus sin envuelta que inicialmente se replica en los macrófagos de los tejidos asociados al intestino, y luego principalmente en linfocitos B proliferantes de la bolsa de Fabricio, lo que causa lesiones bursales e inmunosupresión -Müller et al., 1979-. De la misma forma que muchos virus sin envuelta, el IBDV es muy sensible a los anticuerpos neutralizantes que constituyen el componente más importante de la respuesta inmune protectora frente a IBD.

(*) Vaxxitek® HVT+IBD, Merial Laboratorios S.A.
(**) Traducido por Javier Torrubia, Merial Laboratorios S.A.

Vacunas contra la enfermedad de Gumboro

De las vacunas clásicas empleadas desde hace bastante tiempo frente a IBD, hay que destacar 3 puntos principales:

1. Su administración mediante el agua de bebida.
2. Su relativa inseguridad, ya que en mayor o menor medida van a causar alguna lesión en la bolsa de Fabricio y según sea de grave, cierto grado de inmunodepresión.
3. Su eficacia depende del grado de atenuación, que a su vez determina que sean capaces de sobrepasar un determinado nivel de anticuerpos maternos –MDA- pero que siempre muestran un tiempo de "vacío inmunitario" desde que no son afectadas por los MDA hasta que empiezan a ejercer su protección.

Vacunación en la incubadora

Las ventajas de la vacunación en la incubadora han llevado al desarrollo de nuevas vacunas a ser administradas vía *in ovo* o al nacimiento. En 1985 se fundó la compañía Embrex que desarrolló la máquina para vacunación *in ovo*. J. Sharma, en 1985, halló que la cepa intermedia-plus Winterfield 2512 (W2512) del IBDV era eficaz en pollos de engorde con MDA usando la vacunación vía *in ovo* o al nacimiento -ver tabla 1-.

Concluye que las vacunas suaves de IBD son sensibles a los anticuerpos maternos -MDA- y que las vacunas Intermedias plus, eficaces en aves con MDA, no son seguras en aves SPF, pero su seguridad se vio aumentada cuando el virus W2512 se mezcló con un suero de pollo que contenía anticuerpos neutralizantes frente al IBDV.

La denominada vacuna de inmunocomplejos –ICx- fue desarrollada por Embrex y obtuvo la autorización del USDA en 1995 -Whitfill et al.-. La nueva vacuna fue hecha mediante la mezcla del virus vivo de Gumboro con anticuerpos contra el virus de Gumboro presentes en antisuero, que se administró al día de edad por vía SC en pollos SPF -ver tabla 2-.

Tabla 1. Seguridad y eficacia de cepas vacunales de IBDV (*)

Vacuna	Aves	Seguridad In ovo	Eficacia *In ovo*	Eficacia a 1 día
BVM/TC (suave)	SPF	OK	93/100%	100/100%
	MDA+	OK	**30/100%**	**30/56%**
W-2512 (interm.+)	SPF	**36% +**	-	-
	MDA+	OK	92%	92%

(*) Sharma 1985

Tabla 2. Relación peso Bursal/corporal de la misma cepa con/sin anticuerpos (*)

Vacuna	Anticuerpos	Día 9	Día 21
-	-	3,5	4,8
W-2512	-	1,7	1,6
W-2512	+	**3,3**	**1,6**
W-2512	+++	3,8	3,9
		SEGURIDAD	*POTENCIA*

(*) Whitfill 1995

La adición de anticuerpos al virus de Gumboro origina un complejo vacunal que permite una inmunización más segura en aves SPF que la administración de virus vacunal sin los anticuerpos.

Jeurissen et al. –1998- hallaron que los anticuerpos presentes en la vacuna de ICx administrada *in ovo* retrasaban en unos 5 días la infección de las células B, macrófagos y células dendríticas foliculares –FDC- en la bolsa y en el bazo de pollos SPF -ver tabla 3-.

De estos resultados se llega a la hipótesis de que el mecanismo de acción de la vacuna ICx está relacionado con su interacción específica celular con las FDC en bazo y bolsa.

En pollos de engorde con MDA, el papel de los anticuerpos de la vacuna ICx es menos claro, ya que no se observaron diferencias en las lesiones bursales inducidas por la vacuna y/o la protección entre la vacuna ICx administrada por vía SC y la cepa W2512 administrada por vía oral a los días D1 y D7 -Haddad et al, 1997-. Corley et al. –2002- aplica la cepa W2512 sola o en forma de ICx vía *in ovo* en animales con bajos niveles de MDA, pareciendo que ICx es algo más segura que la cepa vacunal sola -solo a los 39 días- y se retrasa algo la replicación de la cepa -ver tabla 4-.

Por tanto, se podría concluir que tanto la cepa W2512 sola como en forma de ICx, pueden inducir atrofia bursal.

En cuanto a eficacia, Johnston et al. –1997- y Haddad

Tabla 3. Detección IBDV vacunal de la cepa original y combinada en ICx (*)

Vacuna	1 día edad	3 días edad	5 días edad	8 días edad	12 días edad
V877	-	**+++**	+++	+++	+
V877 ICx	-	-	±	**+++**	++

(*) Jeurissen 1998

Tabla 4. Relación peso bolsa/cuerpo de la cepa original y combinada en ICx (*)

Vacuna	Seguridad In ovo Relación peso bolsa/cuerpo a D25 (&) Estudio Corley	Seguridad In ovo Relación peso bolsa/cuerpo a D 39 (&) Estudio Corley	Seguridad SC 1 día Relación peso bolsa/cuerpo a D35 Estudio Haddad
-	3,27 ± 0.2a	2,22 ± 0.2a	2,54 ± 0.7[a]
W2512	**2,65 ± 0.2a**	**1,07 ± 0.2b**	**1,06 ± 0.7[b]**
W2512 ICx	**2,69 ± 0.1a**	2,17 ± 0.1a	**0,82 ± 0.2[b]**

(*) Corley 2002, Haddad 1997
(&) Broilers con bajos MDA

Tabla 5. Eficacia de la cepa original y combinada en ICx (*)

Vacuna	*In ovo* eficacia a 21 días (medida por mortalidad 7 días post desafío) Estudio Johnston	SC Eficacia a 35 días (medida por % de bolsas con lesiones 3 días post desafío) Estudio Haddad
-	80%	44%
W2512	100%	100%
W2512 ICx	100%	100%

(*) Johnston 1997 y Haddad 1997

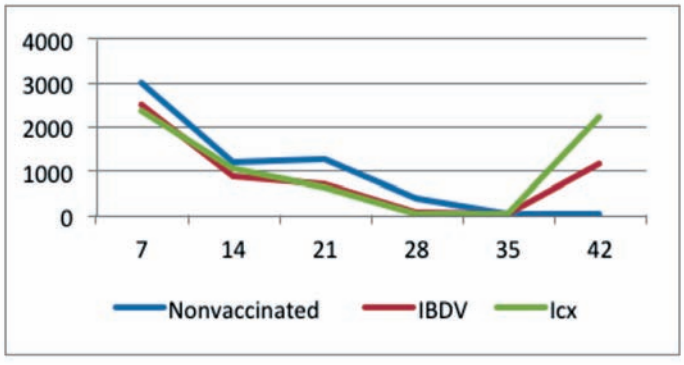

Fig. 1. Evolución de anticuerpos

et al. –1997- vacunaron aves por vía *in ovo* o al primer día por vía SC, con la cepa W2512, bien sola o en forma de ICx, sometiendo los pollos a desafío a los 21 o 35 días respectivamente. Hubo un alto porcentaje de protección en los grupos de control y la valoración de la eficacia no es fácil de hacer debido a las lesiones de la bolsa inducidas por la cepa vacunal. En cualquier caso, no parece haber una ventaja clara de la vacuna ICx en comparación a la misma cepa sola -ver tabla 5-.

Sobre la producción de anticuerpos, Johnston et al. –1997- y Haddad et al. –1997- midieron la respuesta de anticuerpos mediante ELISA IBD –Iddex-. de animales vacunados respectivamente *in ovo* o al día de edad por vía SC. Hubo mayores títulos ELISA IBD con la vacuna ICx al día 42 en los vacunados *in ovo*, pero no en los vacunados por vía SC -ver tabla 6 y figura 1-.

Esto indica la posible presencia de un período de "vacío inmunitario" que igualmente ha sido demostrado por Prandini et al. –2008-. La cinética de los anticuerpos en pollos de engorde indica la presencia de un vacío inmunitario antes de la inducción de una respuesta inmune protectora.

Por todo ello se puede concluir que las vacunas de inmunocomplejos cumplen el requisito para el que

Tabla 6. Títulos de anticuerpos

Vacuna	In ovo D42	SC D35
W2512	1149	1738
W2512 ICx	**2211**	**1514**

fueron creadas de adaptarse a la vacunación en la incubadora, pero en cuanto a seguridad, si bien algunos estudios han demostrado que no causan lesiones significativas en la bolsa de Fabricio, en otros estudios se demuestra que para inducir una respuesta inmune protectora contra IBD, el IBDV de la vacuna ICx necesita primero replicarse en la bolsa, lo que causará lesiones significativas e inmuno-supresión. Sobre la eficacia, si bien algunos demuestran su eficacia, queda la duda del período de "vacío inmunitario".

Vacunas vectoriales

Las vacunas vectoriales frente a IBDV con base en el Herpesvirus de pavo -HVT- -vHVT-IBDV- tienen un modo de acción totalmente diferente de la vacuna ICx. El vector HVT -Herpes virus de pavo, no patógeno para las aves, del que se han usado miles de millones de dosis desde la década de 1970-, se replica y persiste en los linfocitos T -Shek et al., 1982-. El gen que codifica para la proteína protectora VP2 del IBDV fue insertado en el genoma del vector por debajo de un fuerte promotor que está activo durante la replicación del HVT. Las principales células diana en donde se replica el vector HVT no son células B ni macrófagos. La replicación del vector HVT se inicia justo después de la vacunación ya que los MDA no inhiben la replicación de HVT. La proteína VP2 se expresa durante la replicación in vivo del vHVT-IBD y se presenta al sistema inmunitario. La cinética y larga persistencia de los anticuerpos anti-VP2 sugieren que la VP2 se expresa continuamente en los pollos vacunados.

La replicación del vHVT-IBDV no afecta la integridad de la bolsa de Fabricio. Curiosamente y a diferencia de todas las demás vacunas vivas atenuadas frente a IBDV probadas, no se observa ningún vacío inmunitario en la respuesta de anticuerpos VP2.

Prandini et al. –2008- demostraron la continua producción de anticuerpos anti VP2 y la temprana inducción de anticuerpos protectivos, que evita el vacío inmunitario -ver figura 2-.

El vector HVT induce una fuerte inmunidad sistémica que es óptima para controlar una enfermedad sistémica como la enfermedad de Gumboro.

Se puede por tanto resumir en las tablas 7 y 8 las

características y las mejoras se han obtenido con las vacunas más recientes contra la enfermedad de Gumboro, concluyendo que las más significativas se han obtenido con la vacuna vectorial HVT-IBD.

Enfermedad de Newcastle

Es importante recordar que existen 3 patotipos:

- Lentogénicos: que producen sintomatología respiratoria/entérica
- Mesogénicos: que producen sintomatología respiratoria y afectan a la calidad del huevo
- Velogénicos: los más graves, que producen sintomatología respiratoria, nerviosa y también afectan a la calidad del huevo

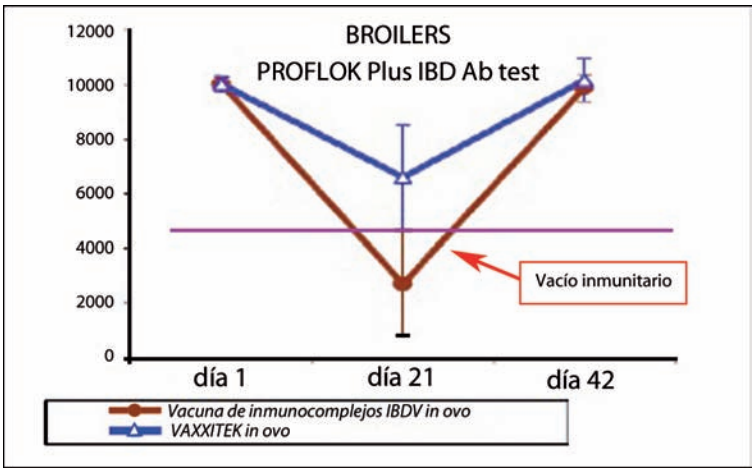

Fig. 2. Títulos de anticuerpos VP2 con ELISA IBD Plus (Prandini 2008)

El virus NDV tiene tropismo por las mucosas respiratorias, de hecho se le considera uno de los componentes del complejo respiratorio. Por ello, se requiere una inmunidad de las mucosas para obtener una protección óptima frente a ND.

Vacunas contra NDV e inmunidad

En la tabla 9 se resumen las características de las vacunas empleadas clásicamente para luchar contra la enfermedad de Newcastle.

Hasta ahora solo la combinación de vacunas vivas modificadas e inactivadas induce una inmunidad óptima.

Sin embargo, las vacunas clásicas frente a NDV tienen unas determinadas limitaciones. Así, algunas de las vacunas vivas modificadas muestran una deficiencia en su seguridad, ya que pueden producir reacciones respiratorias -sobre todo las derivadas de la cepa La Sota- y además requieren revacunaciones en campo.

Las vacunas inactivadas, por su parte, no pueden administrarse *in ovo* y al tratarse de emulsiones su administración debe hacerse de forma individual y pueden causar reacciones locales en el punto de inoculación.

Tabla 7. Resumen de las características de las vacunas ICx y vHVT-IBDV

	Vacuna de inmunocomplejos	Vacuna vectorial HVT-IBD
Indicado en aves	Únicamente en broilers con MDA,	Broilers, ponedoras, reproductoras
Ingrediente activo	W2512 IBDV Intermedia plus	Vector HVT apatógeno
Sitio de replicación	Linfocitos B de la bolsa	Linfocitos T, folículos plumíferos
Efecto de anticuerpos maternos (MDA)	Replicación de W2512 retrasada por los MDA	Replicación de HVT y expresión de VP2 no influida por MDA
Inducción de inmunidad	Respuesta inmune ocurre tras la replicación viral en células B de la bolsa	Expresión prolongada de VP2 que es presentada al sistema inmune
Vacío inmunitario entre disminución MDA e inmunidad activa	Sí, debido a retraso en la replicación y en la respuesta inmune	No, debido a la expresión prolongada de VP2
Inmunosupresión	Severas lesiones bursales que pueden conducir a inmunodepresión	No hay inmunodepresión inducida por HVT; total integridad de la bolsa

Tabla 8. Mejoras de las vacunas de IBD

Tipos de vacunas	clásicas de IBD 1970s	de Inmuno-complejos 1995	Vectorial HVT 2006
Administración en la incubadora	-	+	+
Seguridad	-	-	+
Vacío inmunitario	-	-	+

Tabla 9. Características de las vacunas clásicas frente a ND

Inmunidad	Vivas modificadas (MLV)	Inactivadas (K)	MLV+K
Comienzo	+++	+	**+++**
Mucosa	+++	+	**+++**
Celular	++	+	**+++**
Humoral	+	+++	**+++**
Duración	+	+++	**+++**

Tabla 10. Protección ante desafío a los 28 días con la cepa velogénica GB-Tx, tras la vacunación al día de edad. (*)

Vacuna	Desafío	Protección sistémica (&)	Protección local ($)
HVT-ND (IA)	IM	96%	88%
HVT-ND (IA)	**Ocular**	96%	**16%**
HB1 (IO)	IM	88%	100%
HB1 (IO)	Ocular	100%	100%
-	IM	0%	-
-	Ocular	0%	0%

(*) Morgan 1992

(&) % de protección de signos neurotrópicos y mortalidad); ($) % de vivos 5 días post desafío negativos a virus GB-Tx en tráquea

Para tratar de obviar esas limitaciones, para controlar la ND también han sido desarrolladas vacunas vectoriales basadas en el virus HVT como vector.

En la estructura del virus de Newcastle, se distinguen diferentes proteínas estructurales, de las cuales las 2 que están en la cubierta son las que se consideran protectivas, concretamente la HN -hemaglutinina-neuraminidasa- que permite al virus adherirse a la membrana celular huésped y la F -de fusión- que una vez adheridas, permite su fusión y la penetración del virus -ver figura 3-.

Morgan et al. –1992- desarrolló la vacuna vectorial utilizando el mismo vector HVT que expresa la proteína de fusión F del virus de la enfermedad de Newcastle -vHVT-NDV-, después de comprobar que la proteína F era más efectiva que la HN en la protección de las aves -ver tabla 10-.

Así, las vacunas vHVT-NDV han demostrado proteger contra la infección sistémica por virus velogénicos NDV, pero la protección local frente a la replicación del NDV en la tráquea es baja, lo que provoca una pobre inducción de inmunidad mucosa.

Además, la aparición de la inmunidad se ve retrasada en comparación con las vacunas vivas modificadas –MLV- tal como han demostrado Morgan et al. –1993-, que determinaron que el comienzo de la protección tras la aplicación al día de edad de la vacuna recombinante HVT/F y el subsecuente desafío ocular con la cepa velogénica neurotrópica Texas GB, ocurría entre el dia 14 y 21 tras la vacunación, mientras que la vacunación con la cepa viva Hitchner B1 resultó en protección al día 6 tras la vacunación. Heckert et al -1996- observaron que la vacuna recombinante proporcionaba protección en aumento a medida que el desafío se iba haciendo más tarde.

Hein et al. –2008- mostraron la protección conseguida con la vacuna recombinante y la vacuna viva ND cuando el desafío con una cepa velogénica se hizo a los días 8, 22 o 36 días en broilers comerciales con MDA -ver tabla 11-.

Se ha demostrado en estudios de campo que se requiere al menos una administración de vacunas MLV para obtener inmunidad mucosa, además de la vHVT-NDV, para inducir una mejor y más temprana respuesta inmuno-protectora.

Rauw et al. –2010 - observaron mayor inmunidad cuando se aplicó la combinación rHVT-ND/ vacuna viva ND, en comparación a la aplicación de cualquiera de las 2 vacunas por separado. Ya fuera la recombinante rHVT-ND o la vacuna viva de ND.

Vacunas e inmunidad ante NDV

La combinación de vacunas vivas modificadas junto a las vacunas vectoriales HVT-ND induce amplia inmunidad, pero una respuesta de anticuerpos más baja que la combinación de vacunas vivas modificadas y vacunas inactivadas. Ante una grave infección de campo, sigue permaneciendo la duda de si la vacuna vectorial HVT-

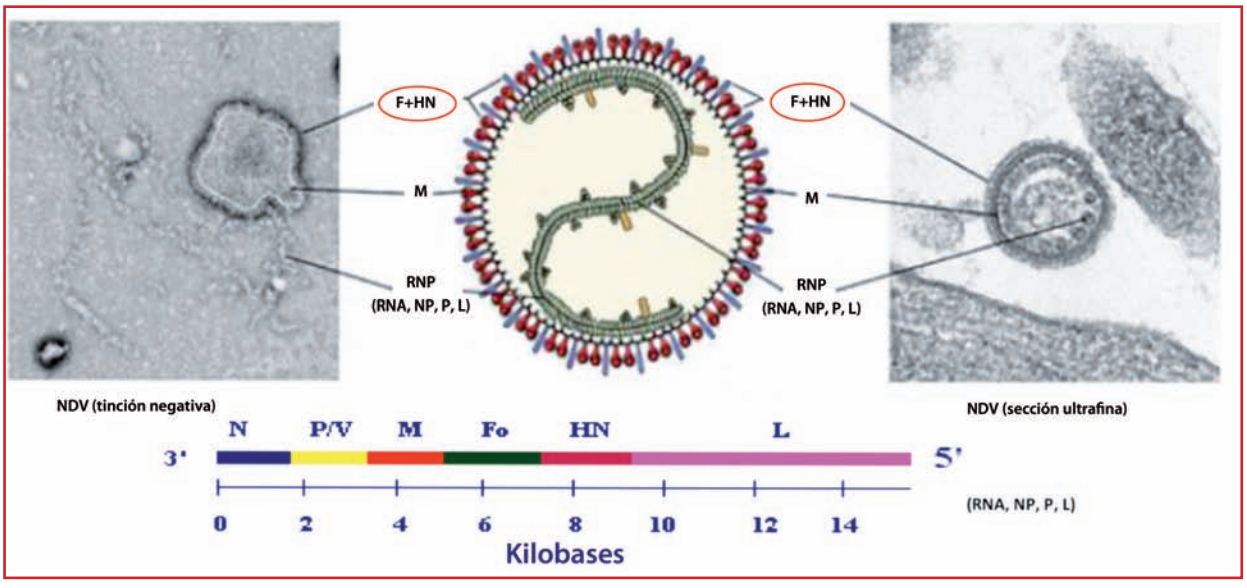

Fig. 3. Esquema de virus de ND y sus proteínas estructurales (F.L. Institute, Riems, Alemania.)

Tabla 11. Protección ante desafío con cepa velogénica (*)

Vacuna	Protección a 8 dpv	Protección a 22 dpv	Protección a 36 dpv
HVT-ND	30%	65%	**100%**
HVT-ND + vacuna viva ND	**100%**	**100%**	**100%**
Vacuna viva ND	**100%**	80%	40%
Control	60%	0%	10%

(*) Hein 2008

Tabla 12. Resumen de características de vacunas contra ND

Inmunidad	Vivas Modif. (MLV)	HVT-ND	MLV+HVT-ND	MLV+K
Comien-zo	+++	+	**+++**	**+++**
Mucosa	+++	+	**+++**	**+++**
Celular	++	++	**+++**	**+++**
Humoral	+	+	+	**+++**
Duración	+	+++	**+++**	**+++**

ND + vacunas vivas, es tan eficaz como las vacunas vivas modificadas + vacunas inactivadas -ver tabla 12-.

Conclusiones

- Aunque es excelente para proteger contra enfermedades sistémicas como la enfermedad de Gumboro, el **vector HVT** tiene algunas limitaciones cuando se utiliza contra enfermedades respiratorias.
- Las **vacunas de inmunocomplejos ICx IBD** no resuelven los problemas de vacío inmunitario y de seguridad, ligados a las vacunas vivas modificadas de IBD.
- Las vacunas **vHVT-ND** no reemplazan a las vacunas vivas modificadas de ND y pueden no ser tan protectoras como la combinación de vacunas **Inactivadas+MLV**
- La vacuna vectorial **vHVT-IBD** reemplaza a las vacunas vivas modificadas de IBD y resuelve los problemas de vacío inmunitario y de seguridad, ligados a las vacunas vivas modificadas de IBD.

(Continúa en página 21)

UNA APLICACIÓN MÚLTIPLE PROTECCIÓN

VAXXITEK® HVT+IBD ES LA ÚNICA VACUNA QUE CONFIERE PROTECCIÓN TEMPRANA Y DURADERA FRENTE A GUMBORO, MAREK Y EL SISTEMA INMUNE POTENCIANDO EL RENDIMIENTO DE LAS AVES.

VAXXITEK HVT+IBD
GET MORE

MERIAL
UNA COMPAÑIA SANOFI