LA **CALIDAD** DE LAS VACUNAS Y SERVICIOS ES
NUESTRO MAYOR COMPROMISO

VAXXITEK™
HVT+IBD

Merial cuenta con productos que mejoran la salud y el bienestar de los animales de producción. Con su concepto innovador en la protección contra Marek y Gumboro, **VAXXITEK™ HTV + IBD** se convirtió en **una de las vacunas más utilizadas en el mundo,** protegiendo el sistema inmune y potenciando el rendimento de las aves.

Merial: trabajando para el futuro de la avicultura en todo el mundo.

MERIAL
UNA COMPAÑIA SANOFI

TRADICIÓN EN INNOVAR

WWW.MERIAL.COM

SEGURIDAD Y EFICACIA DE LAS DIFERENTES VACUNAS CONTRA LA ENFERMEDAD DE **GUMBORO**

J.J. (Sjaak) de Wit.
DVM, PhD, dipl ECPVS (GD Deventer, Holanda)
Tercer Foro Avícola de Merial. París, Abril 2014

1. Introducción

Actualmente, existen varias clases de vacunas para luchar contra la enfermedad de Gumboro. Son las siguientes:

- Vacunas vivas atenuadas convencionales
- Vacunas de complejos antígeno/anticuerpo (inmunocomplejos)
- Vacunas vectoriales

Las vacunas vivas atenuadas convencionales muestran varias características como, por ejemplo, que si existen anticuerpos maternos – MDA - demasiado altos el virus vacunal será neutralizado. De este modo, si se vacuna demasiado pronto, la vacuna será neutralizada en la mayoría de las aves y si se vacuna demasiado tarde, las aves con títulos bajos de MDA quedarán sin protección durante un período de tiempo. Generalmente la protección otorgada por estas vacunas comienza una semana después de la vacunación, siempre y cuando se haya hecho de forma correcta.

También se debe mencionar la dificultad a la hora de elegir el tipo de vacuna adecuada de acuerdo a su nivel de atenuación - suaves, intermedias o intermedias plus/fuertes -. La aplicación se suele hacer mediante el agua de bebida, pero hay que tener en cuenta que incluso si se realiza adecuadamente, en esta vía de administración, existen diferentes factores que pueden poner en riesgo la vacunación.

Las vacunas de complejos antígeno/anticuerpo - o de inmunocomplejos - tienen la ventaja de poder ser aplicadas en la incubadora - ya sea vía "in ovo" o por inyección subcutánea al primer día -, con lo que se evitan buena parte de los problemas inherentes a la vía de administración en el agua de bebida. Sin embargo, la cepa vacunal es del tipo intermedia plus/fuerte, con lo que únicamente son adecuadas para la vacunación de broilers. La replicación de la cepa vacunal comienza cuando los títulos de MDA son suficientemente bajos - títulos individuales -, lo que en condiciones de campo viene a ser entre 2,5 y 4 semanas de edad. La cepa vacunal se disemina, por lo que en aves susceptibles - por ejemplo, a las que no tienen MDA - puede provocarles una inmunosupresión significativa.

Las vacunas vectoriales actuales contra la enfermedad de Gumboro son del tipo HVT-IBD VP2 y se aplican igualmente en la incubadora - ya sea vía "in ovo" o por inyección subcutánea al primer día - con las mismas ventajas comentadas. La replicación comienza de forma inmediata tras su aplicación, ya que depende de la cepa HVT, que es independiente de los MDA frente a la enfermedad de Gumboro. La inmunización frente a esta enfermedad es inducida por los anticuerpos anti VP2, que son los principales involucrados en la protección y responsables de la inducción de anticuerpos neutralizantes. Con estas vacunas se consigue protección frente a virus muy virulentos – vvIBDV - en unas 2 a 3 semanas, si bien muestran una desventaja: no pueden combinarse con otras vacunas basadas en la cepa HVT. Tienen la característica de no difundirse, por lo que aun siendo una propiedad beneficiosa en cuanto a seguridad, si un animal no llega a ser vacunado quedará desprotegido.

2. Evaluación de la seguridad y eficacia de las vacunas contra la enfermedad de Gumboro

La seguridad y eficacia de las vacunas contra la enfermedad de Gumboro se evalúan mediante pruebas como:

- Signos clínicos y patológicos post vacunación y post desafío
- Relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo
- Puntuación de las lesiones bursales

Los signos patológicos post vacunación son importantes para evaluar la seguridad de la vacuna, pues por lo general no deben ser vistos macroscópicamente; los signos clínicos post desafío se utilizan para evaluar la eficacia de las vacunas - aquí entran signos como mortalidad, sobre todo en aves de tipo ponedora, somnolencia o depresión, aspecto de las plumas, detección del antígeno viral, etc -.

La relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo -x1000- o índice bursal, es un método estandarizado para determinar el nivel de atrofia de la bolsa de Fabricio, tanto post vacunación -importante para determinar la seguridad de la vacuna- como post desafío - para evaluar la eficacia de las vacunas- . Se expresa como una ecuación:

$$\text{Índice bursal} = \frac{\text{peso de la bolsa x 1000}}{\text{peso del cuerpo}}$$

Cuanto mayor sea el índice bursal, más favorable será -menor atrofia-.

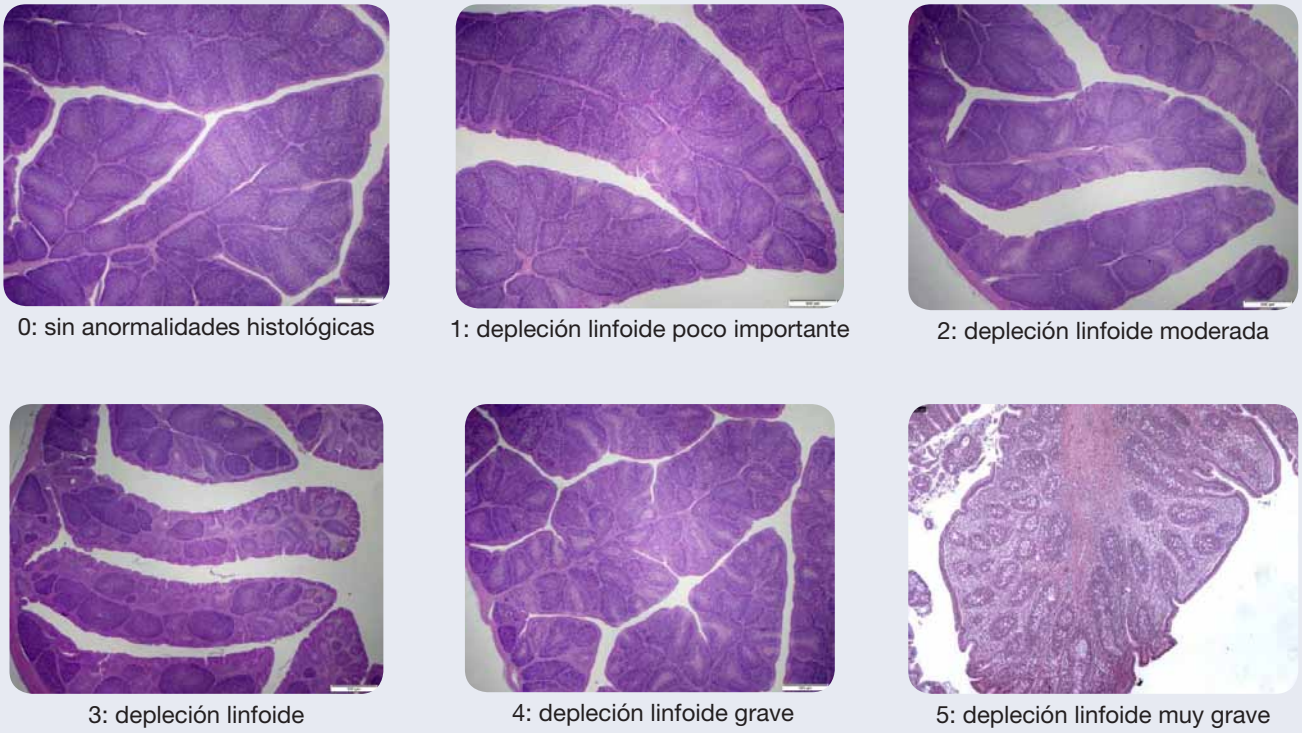


Fig. 1. Puntuación de depleción linfoide según el método Muskett

La puntuación de las lesiones bursales es un método estandarizado para determinar el nivel de lesión de la bolsa por histología - tinción HE -. Se expresa mediante el índice medio de gravedad - MSI: mean severity index -, en el cual la gravedad de las lesiones del tejido linfoide de la bolsa de Fabricio se puntúa según la necrosis linfoide y/o la depleción linfoide. Cuanto menor sea la puntuación, más favorable será - menor atrofia -.

La depleción linfoide se registra según la puntuación de Muskett de 0 a 5 -figura 1-.

3. Ensayos

Se presentan los resultados de 2 estudios de vacunación y desafío llevados a cabo en las instalaciones del Servicio de Sanidad Animal de GD en Deventer, Holanda.

3.1. Primer ensayo, realizado en 2010, trata de la seguridad y eficacia de la vacuna VAXXITEK® HVT-IBD frente a una vacuna convencional intermedia plus contra la enfermedad de Gumboro, en pollitas de ponedoras comerciales.

3.1.1. Materiales y métodos:

- Animales: pollitas de ponedoras comerciales rubias - 20 por grupo - y pollitas ponedoras blancas SPF.
- Vacunas VAXXITEK - vía SC - al día 1 y vacuna intermedia plus al día 21 - calculado según la fórmula de Deventer -.
- Grupos de control desafiados o no.
- Desafío con cepa vvIBDV (D6948) al día 28 (100 LD_{50}/ave).
- Parámetros: Signos clínicos y patológicos post desafío, relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo - B/BWR – a los 0 y 10 días post desafío; puntuación de Muskett 10 días post desafío; serología.

3.1.2. Resultados:

Signos clínicos:

- No hubo signos clínicos tras el desafío en ninguno de los grupos vacunados
- 100% de mortalidad en los animales SPF sin vacunar
- 55% de mortalidad en las pollitas comerciales sin vacunar

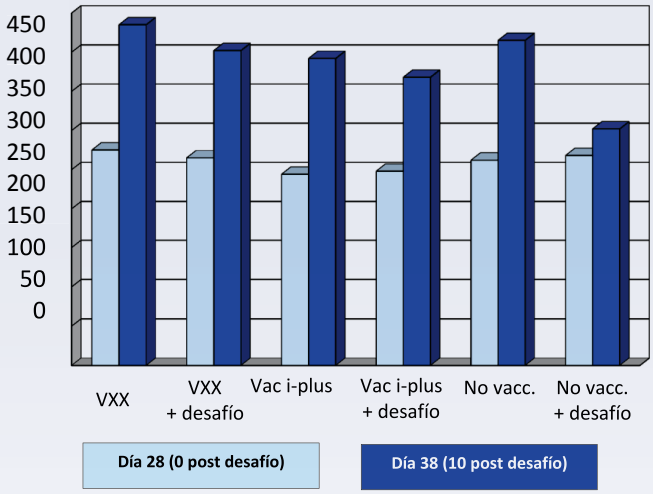


Fig. 2. Peso corporal a los 28 y 38 días de edad

En la figura 2 se detalla la evolución del peso corporal en los diferentes grupos de tratamiento. A los 28 días, en el momento del desafío, los pesos corporales de los animales vacunados con Vaxxitek y los de control sin vacunar son claramente mayores

que los vacunados con la vacuna intermedia plus - estadísticamente significativo, P < 0,01 -. A los 38 días, esto es 10 días post desafío, los pesos corporales de los animales vacunados con Vaxxitek, siguen siendo claramente mayores que los vacunados con la vacuna intermedia plus - estadísticamente significativo, P < 0,01 y que los de control sin vacunar.

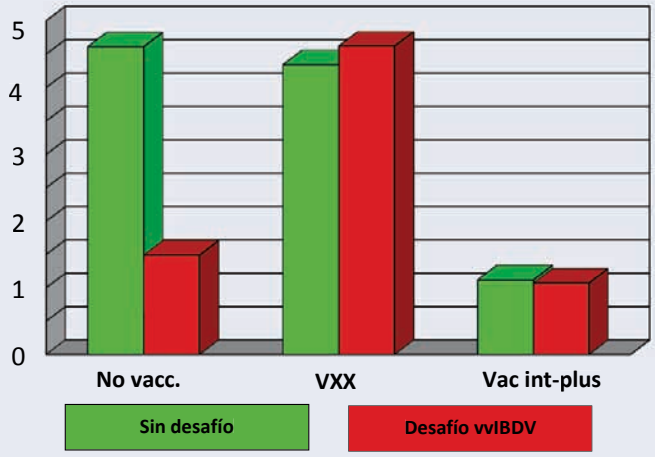


Fig. 3. Relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo (B/BWR) 10 días post desafío

En la figura 3, se detalla la relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo - B/BWR - 10 días post desafío y se puede ver que en los animales sin desafiar apenas hay diferencias entre los de control sin vacunar y los del grupo Vaxxitek, mientras que los del grupo de vacuna intermedia plus son claramente menores. Tras el desafío, la relación se mantiene con valores altos y similares en el grupo Vaxxitek, mientras que en los de control sin vacunar se reduce de un modo evidente y en los vacunados con intermedia plus, se mantienen en valores muy bajos. De todo esto, se puede decir que Vaxxitek es segura al no afectar a la bolsa de Fabricio tras la vacunación, al contrario que la vacuna intermedia plus, que sí la afecta. Además, Vaxxitek es efectiva en mantener la protección de la bolsa ante el desafío, que sí afecta gravemente la bolsa en el grupo de control sin vacunar.

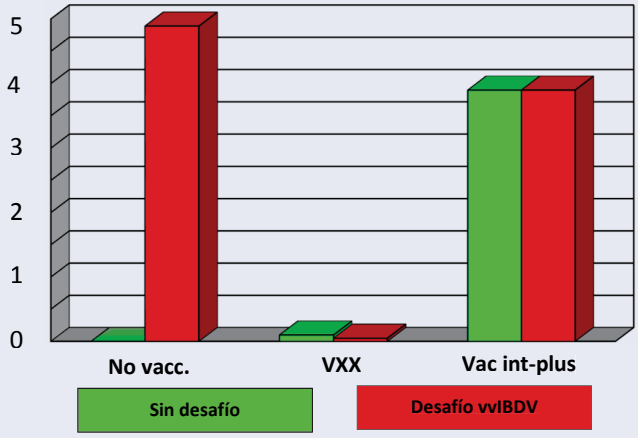
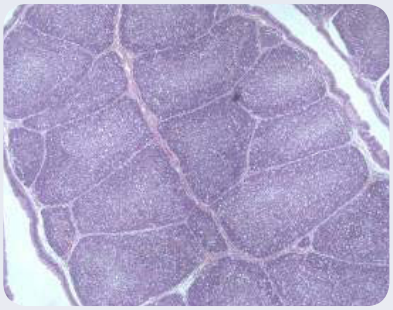


Fig. 4. Puntuación de lesión bursal (Muskett) 10 días post desafío

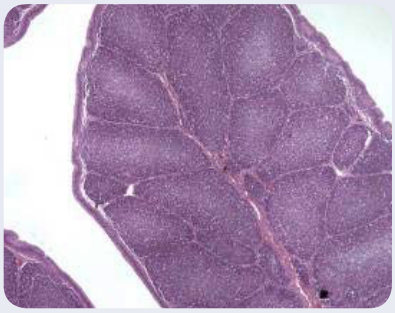
En la figura 4, se observan los resultados de las puntuaciones de las lesiones de la bolsa, tanto antes como después. El grupo sin vacunar carece de lesiones sin desafío. Sin embargo, muestra lesiones de valor cercano a 5 tras el desafío. En contraste, en el grupo Vaxxitek, las lesiones son mínimas, muy cercanas a 0, en ambos grupos.

En el grupo de la vacuna intermedia plus, las lesiones son considerables, cercanas al valor 4 en los dos grupos, lo que indica que la vacuna ya causa lesiones en la bolsa.

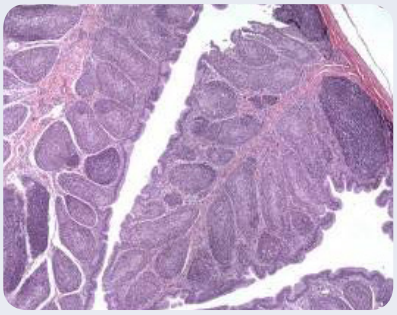
En la figura 5, se observan las imágenes histológicas de las lesiones, que no necesitan mayor explicación.



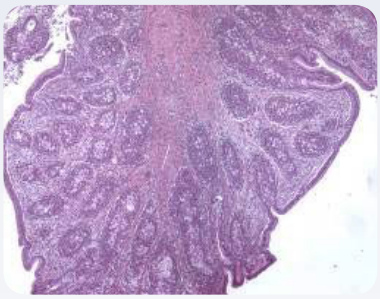
Controles negativos



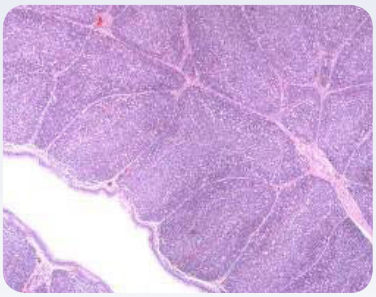
Vaxxitek



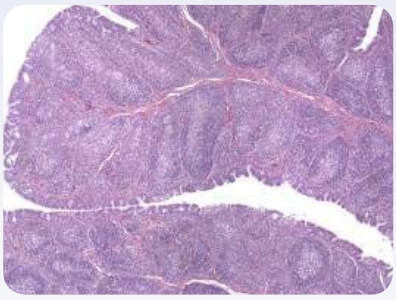
Vac. Int. Plus, 17 días post vacunación



Controles positivos vvIBDV



Vaxxitek + vvIBDV



Vac. Int. Plus + vvIBDV

Fig. 5. Resultados histológicos

3.1.3. Resumen del estudio experimental:

- Tanto VAXXITEK - aplicada al día 1 - como la vacuna intermedia plus - aplicada al día 21 - proporcionaron protección clínica total frente a la exposición vvIBDV al día 28.
- No se observaron lesiones bursales en las aves vacunadas con VAXXITEK, ni siquiera tras el desafío.
- Se observaron graves lesiones bursales en las aves vacunadas con intermedia plus.
- A los 28 y 38 días de edad, los pesos medios corporales de los grupos vacunados con VAXXITEK fueron significativamente mayores que los de los grupos vacunados con intermedia plus -P<0,01-.

3.2. Segundo ensayo, realizado en 2013, trata de la eficacia de la vacuna VAXXITEK® HVT-IBD en comparación con la eficacia de una vacuna de complejos antígeno/anticuerpo – inmunocomplejos - contra un desafío con una cepa holandesa muy virulenta del IBDV en broilers comerciales vacunados por vía SC al día de edad, y la seguridad en broilers SPF y ponedoras SPF tras la prueba de difusión.

3.2.1. Materiales y métodos:

- Animales: Primera parte del estudio - eficacia frente al desafío -: broilers comerciales - 20 por grupo -.
- Vacunas: VAXXITEK y vacuna de inmunocomplejos – Icx - por vía SC al día 1 de edad.
- Desafío con cepa vvIBDV - D6948 - al día 28 - 100 LD_{50}/ave -.
- Parámetros: Signos clínicos post desafío, relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo - B/BWR - a los 0 y 10 días -; puntuación de Muskett 10 días después; serología.
- Grupos de control
- Primera parte del estudio: Eficacia frente al desafío, que se estudió utilizando los grupos siguientes:
  - Broilers vacunados con cada una de las 2 vacunas
  - Broilers de control sin vacunar y desafiados
  - Broilers de control sin vacunar y sin desafiar
  - Ponedoras blancas Leghorn SPF de control sin vacunar y desafiadas
  - Ponedoras blancas Leghorn SPF de control sin vacunar y sin desafiar.

3.2.2. Resultados:

Signos clínicos tras el desafío:

- No hubo signos clínicos ni patológicos en ninguno de los grupos vacunados.
- 80% de mortalidad en las pollitas ponedoras SPF sin vacunar
- Sin mortalidad en los broilers SPF.

En la figura 6, se detalla la relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo -B/BWR- 10 días post desafío, observándose que en los broilers en el momento del desafío la relación es claramente mayor en los no vacunados y en los vacunados con Vaxxitek, en comparación con los vacunados con ICx -efecto del virus vacunal-. A los 10 días del desafío la relación se mantiene en ambos grupos vacunados y en los de control sin desafiar, bajando de forma manifiesta en los de control no vacunados -efecto del virus de desafío-. En el caso de las ponedoras de control, la relación en el momento del desafío es notoriamente mayor que en los broilers, y tras la misma se mantiene en las de control sin desafiar, mientras que disminuye muy claramente en las desafiadas.

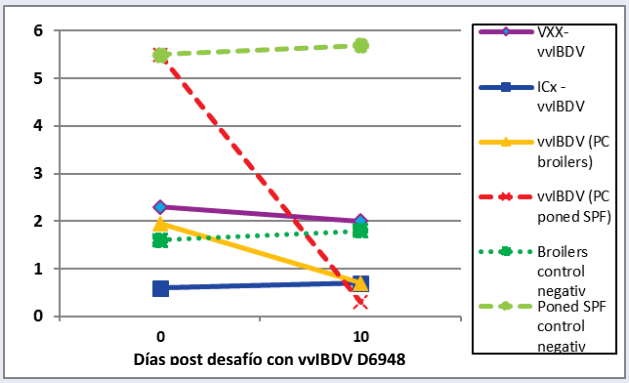


Fig. 6. Relación de peso entre la bolsa de Fabricio y el cuerpo (B/BWR) 10 días post desafío

En la fotografía de la figura 7, se observa que en los 2 grupos vacunados con Vaxxitek, desafiados y sin desafiar - líneas 1ª y 2ª -, y los animales de control sin desafiar - líneas 5ª y 6ª -, el tamaño de la bolsa de Fabricio es visiblemente más grande y no es por tanto afectada, mientras que en los animales vacunados con ICx - línea

Fig. 7. Imagen de las bolsas de Fabricio, 10 días post desafío

3ª - y en los 2 grupos de control desafiados - líneas 4ª y 7ª - el tamaño de la bolsa es mucho más pequeña, lo que indica que ha sido afectada.

En la tabla 1, se detallan los resultados de las puntuaciones de las lesiones de la bolsa de Fabricio - según Muskett - en el día del desafío - D28 -.

Tabla 1. Puntuaciones (Muskett) de las lesiones bursales

Grupo vacunado	Puntuación media de Muskett 28 días post vacunación
Vaxxitek	0,0
Vacuna inmunocomplejos	4,2
Control negativo	0,0

En la segunda parte del estudio - para estudiar la seguridad en broilers SPF y ponedoras SPF tras la prueba de difusión - los grupos de control fueron los siguientes:

- Broilers comerciales vacunados con vacuna ICx
- Ponedoras blancas Leghorn SPF de 1 día de edad, sin vacunar - "contactos" - mezcladas en la misma unidad de aislamiento con broilers comerciales vacunados con la vacuna ICx - "difusores" -
- Broilers SPF sin vacunar mezclados con ponedoras SPF
- Broilers SPF sin vacunar sin contacto con ponedoras SPF

Los parámetros medidos en este caso fueron los signos patológicos y lesiones y la relación de peso bolsa/cuerpo - B/BW R - a los 19, 28 y 35 días.

En los animales de "contacto" - ponedoras blancas Leghorn SPF de 1 día de edad, sin vacunar -, un 47% de ellas mostraron signos patológicos, con un 24% de mortalidad a los 18/19 días. Los signos patológicos observados fueron lesiones en la bolsa de Fabricio - con puntuación de nivel 5, según Muskett - y una depleción linfocitaria muy marcada. La cepa vacunal de la vacuna ICx fue confirmada mediante PCR y secuenciación.

3.2.3. Resumen del estudio experimental:

- Tanto VAXXITEK como la vacuna de inmunocomplejos proporcionaron protección clínica total frente al desafío vvIBDV al día 28.
- No se observaron lesiones bursales en las aves vacunadas con VAXXITEK, ni siquiera tras el desafío.
- Se detectaron graves lesiones bursales en las aves vacunadas con la vacuna de inmunocomplejos.
- Se evidenció mortalidad en las ponedoras SPF tras la difusión de la cepa vacunal de los animales vacunados con la vacuna de inmunocomplejos

4. Conclusiones

Existen vacunas de diferentes tipos que son capaces de inducir protección total frente a los signos clínicos causados por un desafío con vvIBDV:

- Vacunas convencionales: existen complicaciones para su adecuada aplicación en condiciones de campo y causan lesiones a la bolsa de Fabricio.
- Vacunas de inmunocomplejos: tienen la ventaja de poder ser aplicadas en la incubadora, pero causan lesiones en la bolsa de Fabricio y pueden provocar mortalidad en pollitas.
- Vacunas vectoriales HVT-IBD VP2: tienen también la ventaja de poder ser aplicadas en la incubadora y, además, son completamente seguras e inocuas tanto para la bolsa de Fabricio, como para las aves en general. •

Tabla 2. Seguridad en broilers SPF y ponedoras SPF tras la prueba de difusión de la vacuna ICx

Vacuna/aves de contacto	Relación B/BW media*1000			Morbilidad (%) a 18-19 días	Mortalidad (%) a 18-19 días
	Día 19*	Día 28*	Día 35*		
Broilers comerciales vacunados con vacuna ICx	1,38	0,61	-	0	0
Ponedoras SPF sin vacunar en contacto con broilers vacunados	-	1,40	-	47	24
Broilers SPF sin vacunar en contacto con ponedoras SPF	1,35	0,93	0,83	0	0
Broilers SPF sin vacunar sin contacto con ponedoras SPF		2,56	2,97	0	0

* Los broilers SPF fueron incubados en el día 15 del estudio