

Eficacia y seguridad de la vacuna Poulvac IBQX para la protección de broilers, ponedoras y reproductoras frente al serotipo QX del virus de la bronquitis infecciosa aviar

T. BRU^{1*}, H. GEERLIGS², M. MOMBARG¹, A. URNIZA¹ Y R. VILA¹.

¹Pfizer Olot S.L.U., Ctra. Camprodon s/n Finca "La Riba", 17813 La Vall de Bianya (Girona), España.

²Pfizer European Service Center, Hoge Wei 10, B-1930 Zaventem, Belgium.

* Autor de contacto: Tura.Bru@pfizer.com

RESUMEN

Pfizer Animal Health ha desarrollado la vacuna Poulvac IBQX, una vacuna viva atenuada para la protección contra el IBV cepa QX. Vacuna destinada a broilers a partir de 1 día de edad, y a ponedoras y reproductoras a partir de los 7 días de edad. Se han realizado varios estudios para probar la seguridad y eficacia de la vacuna. En los estudios de seguridad no se observaron signos clínicos post-vacunación, los animales vacunados presentaron un incremento de peso corporal similar al grupo control y no se observaron lesiones macroscópicas post-mortem que pudieran afectar al aparato reproductor de las hembras. En los estudios de eficacia se demostró el establecimiento de la inmunidad a los 21 días post-vacunación y se determinó una duración de la inmunidad de 63 días post-vacunación. Con los resultados obtenidos, podemos concluir que la vacuna Poulvac IBQX es segura y es eficaz contra el nuevo serotipo, IBV QX-like.

Palabras clave: Poulvac IBQX; IBV; QX; eficacia; seguridad.

ABSTRACT

A new live attenuated vaccine has been developed by Pfizer Animal Health for the protection against IBV QX strain; vaccine intended to broilers from 1 day-old and layers and breeders from 7 day-old. Different safety and efficacy studies have been performed. From the safety point of view, no clinical signs post-vaccination has been observed, the vaccinated animals had a similar body weight increase than the control group and no post-mortem macroscopic lesions that can affect the reproductive tract of the females has been observed. In the efficacy studies has been set up an onset of immunity at 21 days post-vaccination and a duration of immunity of 63 days. It can be concluded that the vaccine Poulvac IBQX is safe and efficacious against IBV QX-like strain.

INTRODUCCIÓN

El virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV) es el causante de una enfermedad infecciosa viral que puede afectar al tracto respiratorio, reproductivo, digestivo y renal de las aves. Actualmente esta enfermedad está causando importantes pérdidas económicas en las granjas Europeas de aves; principalmente debido a la pérdida de peso corporal de los animales, la reducción en la puesta de huevos y el incremento de huevos anormales, así como un incremento en la mortalidad.

El control de esta enfermedad tiene lugar mediante la vacunación. Existen diferentes serotipos en el campo y continuamente están surgiendo nuevas variantes de IBV. En el año 2004 apareció un nuevo serotipo en Europa semejante al QX aislado en China (Wang et al., 1998; Benyeda et al., 2009); este fue nombrado QX-like variante (Gough et al., 2008; Monne et al., 2008; Valastro et al., 2010). Pfizer Animal Health ha usado la cepa holandesa QX-like para desarrollar una vacuna viva atenuada denominada Poulvac IBQX. El virus vacunal se ha atenuado mediante múltiples pases en huevos embrionados de gallina; el *master seed virus* (MSV) se ha establecido a 80 pases (Geerligts et al., 2011). La vacuna está destinada a la protección de broilers a partir de un día de edad y a gallinas ponedoras y reproductoras a partir de los 7 días de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Una serie de estudios fueron realizados con el fin de evaluar la seguridad y la eficacia de la vacuna Poulvac® IBQX.

Estudios de seguridad

Para evaluar la seguridad de la vacuna, se diseñaron dos estudios en los cuales se administró una sobredosis de la vacuna ($10^{5.0}$ EID₅₀/animal): uno destinado a evaluar los síntomas clínicos generales post-vacunación y las lesiones post-mortem; y el otro destinado a evaluar el efecto de la vacuna sobre el tracto reproductivo de las hembras. En el primer estudio se incluyeron 60 gallinas libres de patógenos específicos (SPF) de un día de edad, la mitad de las cuales fueron inoculadas por vía ocular con 0.2 mL de Poulvac IBQX a una concentración de $10^{5.0}$ EID₅₀/animal. Se observaron los signos clínicos diariamente, y semanalmente se tomó el peso corporal. A los 42 días post-vacunación se sacrificaron y se evaluaron las lesiones macroscópicas post-mortem. En el segundo estudio se evaluó la seguridad de la vacuna sobre el tracto reproductivo de las hembras. Se incluyeron tres grupos de 50 hembras, dos grupos eran animales SPF (uno vacunado y uno control) y un tercer grupo que eran animales comerciales con anticuerpos maternos. Antes de la vacunación se sangraron diez animales del mismo lote y nacimiento para tener una muestra representativa de la población. Estos sueros fueron analizados con un test de ELISA (*FlockCheck Infectious Bronchitis Virus Antibody Test Kit* de IDEXX) para determinar el nivel de anticuerpos maternos frente IBV. A los 7 días de edad se inoculó un grupo de gallinas SPF y el grupo de gallinas comerciales con Poulvac IBQX. La vacuna se administró mediante spray a una concentración de $10^{5.0}$ EID₅₀/animal a una dosis de 0.5mL/animal. A las 10 semanas post-vacunación se sacrificaron todos los animales y se evaluaron las lesiones macroscópicas, prestando especial atención al oviducto.

Estudios de eficacia

Para demostrar la eficacia de la vacuna se diseñaron tres estudios en los cuales se vacunaron animales de 1 día de edad con la vacuna formulada a la concentración mínima. A los 21, 42 o 63 días post-vacunación, según el estudio, tuvo lugar la infección experimental y la posterior evaluación de la eficacia mediante el test de ciliostasis descrito en la Farmacopea Europea. Los animales fueron infectados por vía ocular con 0.2 mL (0.1 mL por ojo) del virus QX-like cepa D388 a una concentración de $10^{4.0}$ EID₅₀/animal. A los cinco días post-infección se eutanasiaron los animales y se realizó el test de ciliostasis. Inmediatamente después de la eutanasia, se extrajo la tráquea de cada animal y se realizaron 10 finas láminas de diferentes segmentos: tres de la parte superior, cuatro del medio y tres de la parte inferior. Cada sección fue observada al microscopio óptico y se evaluó la actividad ciliar que presentaba. Si la actividad ciliar era igual o superior al 50%, el segmento era considerado normal y recibía un valor de 0; si la actividad ciliar era inferior al 50% recibía un valor de 1. Esta valoración nos permite dar un valor numérico de ciliostasis de entre 0 y 10 por animal. El valor numérico medio de cada grupo vacunado e infectado fue comparado estadísticamente con el valor del grupo control infectado. Para el análisis estadístico el individuo ha sido considerado la unidad experimental. Se analizaron los datos utilizando un test no paramétrico para dos variables que no siguen una distribución normal (Mann-Whitney U test). Una diferencia se considera estadísticamente significativa si el valor p es igual o inferior a 0.005.

En el primero de los tres estudios de eficacia, se estudió el inicio de la inmunidad. Para este estudio se incluyeron 90 gallinas comerciales con anticuerpos maternos y 30 gallinas SPF de un día de edad.

Se hicieron tres grupos de 30 animales cada uno y se vacunaron con dos concentraciones diferentes de vacuna, $10^{3.0}$ EID₅₀/animal y $10^{3.3}$ EID₅₀/animal; se dejó un grupo control no vacunado. Las gallinas SPF fueron inoculadas con $10^{3.0}$ EID₅₀/animal. La inoculación tuvo lugar mediante espray a una dosis de 0.5mL por animal. A las tres semanas post-vacunación, 20 animales por grupo fueron infectados con el virus de infección experimental ($10^{4.0}$ EID₅₀/animal) y a los cinco días se evaluó la eficacia mediante el test de ciliostasis.

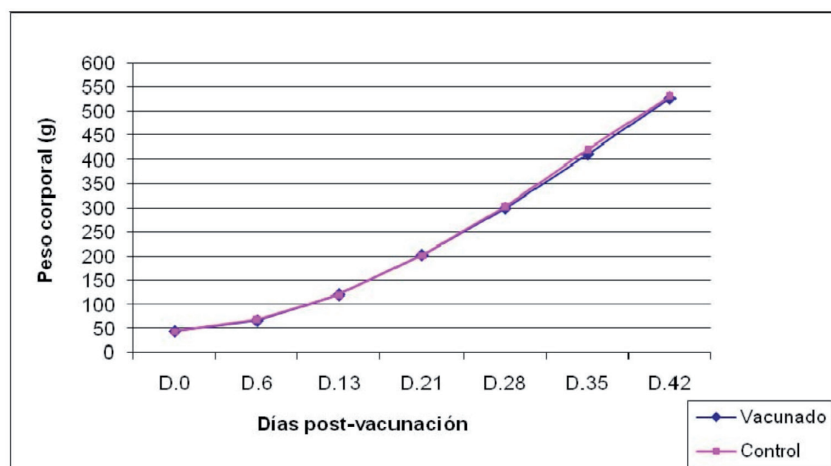
A continuación se realizaron dos estudios de duración de la inmunidad. Se empezó con un estudio de 42 días de duración (6 semanas), dónde se probaron diferentes concentraciones de la vacuna y se seleccionó la concentración mínima eficaz. Una vez seleccionada la mejor concentración, se realizó otro estudio de duración superior, 63 días (9 semanas). En este segundo estudio se incluyeron un total de 60 gallinas SPF de un día de edad. Se inocularon mediante espray con 0.5 mL de Poulvac IBQX a una concentración de $10^{3.0}$ EID₅₀/animal. En ambos estudios, a los 42 o 63 días post-vacunación, respectivamente, se infectaron 20 animales por grupo con el virus de infección experimental. A los 5 días post-infección se sacrificaron los animales y se realizó el test de ciliostasis. Todos los estudios fueron realizados siguiendo la legislación nacional y bajo supervisión del comité ético local.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de seguridad de 42 días post-vacunación

Durante los 42 días post-vacunación ninguno de los animales presentó signos clínicos. Antes de la vacunación y semanalmente hasta los 42 días postvacunación, se tomó el peso corporal de todos los animales. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el peso corporal de los animales vacunados y los controles (Figura 1). A los 42 días post-vacunación se sacrificaron todos los animales y se necropsiaron. No se observaron lesiones macroscópicas en ningún animal.

Figura 1. Peso corporal medio del grupo vacunado y el grupo control durante las seis semanas post-vacunación

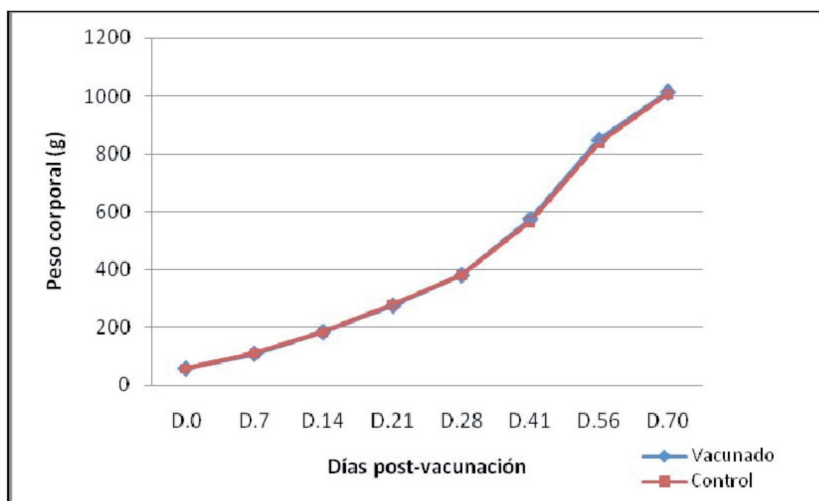


Estudio de seguridad del tracto reproductor de las hembras

En los grupos de animales SPF no se observaron signos clínicos durante el transcurso de todo el estudio. Hubo cuatro bajas durante el estudio: un animal antes de la vacunación, otro control a los 42 días post-vacunación (se observó una leve presencia de moco en la tráquea y contenido intestinal líquido en la necropsia) y 2 vacunados. Los vacunados fueron encontrados muertos a los 4 y 5 días post-vacunación. Ninguno de los dos animales no presentó lesiones macroscópicas en la necropsia, se atribuyó la muerte a una mala adaptación al pienso y/o ambiente, al igual que el animal muerto

antes de la vacunación. En el monitoreo semanal del peso corporal, no se observaron diferencias entre el peso corporal del grupo vacunado y el grupo control; ambos grupos presentaron un aumento de peso medio diario similar, 14.4g los vacunados y 14.3g los controles (Figura 2).

Figura 2. Peso corporal medio del grupo vacunado y el grupo control durante las diez semanas post-vacunación.



El grupo de animales con anticuerpos maternos tampoco presentó signos clínicos durante el transcurso del estudio. No hubo ninguna baja en el transcurso del estudio. En el monitoreo semanal del peso corporal, los animales presentaron un crecimiento normal. En el análisis serológico previo a la vacunación se determinó que los animales tenían un título de anticuerpos maternos frente IBV de entre 2.7 y 3.7 log unidades ELISA.

A las diez semanas post-vacunación se sacrificaron todos los animales y se realizaron las necropsias; prestando especial atención al aparato reproductor y en concreto al oviducto. En los animales SPF, un animal vacunado presentó dilatación del ureter derecho con leve hipoplasia del riñón; y un animal control presentó un pequeño quiste a la pared del oviducto. Este quiste no afectaba la tubularidad del oviducto, por lo tanto, no afectaría su funcionalidad. Otro animal del grupo control era de tamaño pequeño pero no presentó lesiones macroscópicas. En el grupo d'animales con anticuerpos maternos, tres gallinas presentaron un pequeño quiste sobre la pared del oviducto pero estos tampoco no afectaban la tubularidad del oviducto ni su funcionalidad. Por último, en este grupo de animales con anticuerpos maternos, también había una animal de tamaño mas reducido. En la necropsia este animal presentó el buche dilatado y con contenido liquido; una lesión que no está relacionada con el IBV.

Inicio de la inmunidad a los 21 días post-vacunación

Durante el transcurso del estudio, no se observaron signos clínicos, ni post-vacunación ni post-infección de los animales. Dos animales, uno SPF y el otro comercial, ambos vacunados con la concentración baja de vacuna; fueron encontrados muertos a los días 3 y 5 post-vacunación, respectivamente. No presentaron lesiones macroscópicas en la necropsia. La muerte se atribuyó a una mala adaptación al pienso y/o ambiente. A los 5 días postinfección, se realizó el test de ciliostasis. Los valores numéricos obtenidos en el test de ciliostasis de los diferentes grupos vacunados fueron comparados estadísticamente con el obtenido en el grupo control infectado. En los tres casos, los valores numéricos de ciliostasis de los animales vacunados fueron estadísticamente inferiores al grupo control (Tabla 1). Por lo tanto, la concentración baja de la vacuna ($10^{3.0}$ EID₅₀/dosis) protege tanto a los animales SPF como a los animales comerciales con anticuerpos maternos frente a una infección con el virus IBV QX-like.

Tabla 1. Resultados del test de ciliostasis en el estudio del inicio de la inmunidad

Grupo	Animales	Tratamiento	Valor numérico del test de ciliostasis	Análisis estadístico entre los grupos vacunados y el control
T01	MDA	Poulvac IBQX a $10^{3.0}$ EID ₅₀ /dosis	2.9	Mann-Whitney U test Valor p <0.001 SIGNIFICATIVO
T02	MDA	Poulvac IBQX a $10^{3.3}$ EID ₅₀ /dosis	2.5	Mann-Whitney U test Valor p <0.001 SIGNIFICATIVO
T03	SPF	Poulvac IBQX a $10^{3.0}$ EID ₅₀ /dosis	2.0	Mann-Whitney U test Valor p <0.001 SIGNIFICATIVO
Control	MDA	No vacunados	10	

Duración de la inmunidad de 42 días post-vacunación

Durante el transcurso del estudio, no se observaron signos clínicos, ni post-vacunación ni post-infección de los animales. A los 5 días postinfección, se realizó el test de ciliostasis. El valor numérico obtenido en el test de ciliostasis de los grupos vacunados e infectados, fue comparado estadísticamente con el obtenido en el grupo control infectado. En las dos concentraciones de vacuna ($10^{3.0}$ EID₅₀/dosis y $10^{3.3}$ EID₅₀/dosis) se encontraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo control; hecho que corrobora la eficacia de la vacuna (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados del test de ciliostasis en el estudio de la duración de la inmunidad de 42 d

Grupo	Tratamiento	Valor numérico del test de ciliostasis	Análisis estadístico entre los grupos vacunados y el control
T01	Poulvac IBQX a $10^{3.0}$ EID ₅₀ /dosis	1.9	Mann-Whitney U test Valor p <0.001 SIGNIFICATIVO
T02	Poulvac IBQX a $10^{3.3}$ EID ₅₀ /dosis	0.7	Mann-Whitney U test Valor p <0.001 SIGNIFICATIVO
Control	No vacunados	10	

Duración de la inmunidad de 63 días post-vacunación

Durante el transcurso del estudio, no se observaron signos clínicos, ni post-vacunación ni post-infección de los animales. A los 5 días postinfección, se realizó el test de ciliostasis. El valor numérico obtenido en el grupo vacunado e infectado fue comparado estadísticamente con el grupo control infectado (Tabla 3). La diferencia fue estadísticamente significativa, resultado que permite prorrogar la duración de la inmunidad de los 42 días del estudio previo a los 63 días (9 semanas).

Tabla 3. Resultados del test de ciliostasis en el estudio de la duración de la inmunidad de 63 días

Grupo	Tratamiento	Valor numérico del test de ciliostasis	Análisis estadístico entre el grupo vacunado y el control
Vacunado	Poulvac IBQX a $10^{3.0}$ EID ₅₀ /dosis	1.8	Mann-Whitney U test Valor p <0.001 SIGNIFICATIVO
Control	No vacunados	9.9	

Los diferentes estudios realizados nos permiten asegurar la seguridad de la vacuna en broilers a partir de un día de edad y en gallinas ponedoras y reproductoras a partir de los siete días de edad. Los estudios de eficacia demuestran que la vacuna Poulvac IBQX protege frente el IBV cepa QX, tanto en animales SPF como en animales comerciales con anticuerpos maternos. El inicio de la inmunidad tiene lugar a las 3 semanas post-vacunación y tiene una duración de hasta 9 semanas post-vacunación. Esta duración de la inmunidad confiere protección durante todo el período de engorde de los broilers.

BIBLIOGRAFÍA

BENYEDA, Z., MATO, T., SÜVEGES, T., SZABO, E., KARDI, V., ABONYI-TOTH, Z., RUSVAI, M., and PALYA, V. (2009) Comparison of the pathogenicity of QX-like, M41 and 793/B infectious bronchitis strains from different pathological conditions. *Avian Pathology* 38: 449-456.

GEERLIGS, H.J., BOELM, G.-J., MEINDERS, C.A.M., STUURMAN, B.G.E., SYMONS, J., TARRES-CALL, J., BRU, T., VILA, R., MOMBARG, M., KARACA, K., WIJMENGA, W. and KUMAR, M. (2011) Efficacy and safety of an attenuated live QX-like infectious bronchitis virus strain as a vaccine for chickens. *Avian Pathology* 40: 93-102.

GOUGH, R.E., COX, W.J., DE WELCHMAN, B., WORTHINGTON, K.J. and JONES R.C. (2008) Chinese QX strain of infectious bronchitis virus was isolated in the UK. *The Veterinary Record* 162: 99-100.

MONNE, I., CATTOLI, G., JONES, R., WORTHINGTON, K and WIJMENGA, W. (2008) QX genotypes of infectious bronchitis virus circulating in Europe. *The Veterinary Record* 163: 606-607.

VALASTRO, V., MONNE, I., FASOLATO, M., CECCHETTIN, K., PARKER, D., TERREGINO, C. and CATTOLI, G. (2010) QX-type infectious bronchitis virus in commercial flocks in the UK. *The Veterinary Record* 167: 865-866.

WANG, Y.D., WANG, Y.L., ZHANG, Z., FAN, G., JIANG, Y., LIU, X., DING, J. and WANG, S. (1998) Isolation and identification of glandular stomach type IBV (QX IBV) in chickens. *Chinese Journal of Animal Quarantine* 15: 1-3.