



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



INFORME DE REVISIÓN

Se ha realizado el análisis con el software antiplagio de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", por parte de los docentes reponsables, al documento cuyo título es:

**AVANCES EN BIOTECNOLOGIA PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS
VECTORIZADAS**

presentado por:

Luis Rolando Alzamora Velarde

del nivel **PREGRADO** de la facultad de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**
obteniéndose como resultado una coincidencia de **10.88%** otorgándosele el calificativo de:


APROBADO

Se adjunta al presenta el reporte de evaluación del software antiplagio.


Observaciones:

El bachiller paso satisfactoriamente el sistema antiplagio

Ica, 20 de Agosto de 2020



**FRIEDA GABRIELA SANGUINETI DE
RODRIGUEZ
COORDINADOR
SOFTWARE ANTIPLAGIO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**



**EDMUNDO GAMIO GALARZA PORRAS
ASESOR
SOFTWARE ANTIPLAGIO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**



**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA DE ICA**



TRABAJO DE INVESTIGACION

AVANCES EN BIOTECNOLOGIA PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS VECTORIZADAS

ELABORADO POR

Bach. LUIS ROLANDO ALZAMORA VELARDE

Diciembre 2010

INDICE GENERAL

- I. INTRODUCCION
- II. ORIGENES
- III. VACUNAS CLASICAS O CONVENCIONALES USADAS ACTUALMENTE
- IV. VACUNAS VIVAS
 - FORMAS DE PRESENTACION
- V. VACUNAS INACTIVADAS
- VI. DIFERENCIAS FUNCIONALES
- VII. PROBLEMAS ASOCIADOS AL USO DE VACUNAS TRADICIONALES
- VIII. CUADROS COMPARATIVOS
 - VACUNAS
 - VENTAJAS
 - DESVENTAJAS
- IX. NUEVAS ESTRATEGIAS DE CONTROL
- X. VACUNAS VECTORIZADAS
- XI. COMPARACION ENTRE VACUNAS TRADICIONALES vs VACUNAS VECTORIZADAS
- XII. CASO # 1: CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE
 - CONTROL DE LA ENFERMEDAD Y SUS INCONVENIENTES
 - HVT ND (rHVT – F)
 - DURACION DE LA INMUNIDAD
 - ESPECTRO DE PROTECCION
- XIII. CASO # 2: CONTROL DE LA LARINGOTRAQUEITIS INFECCIOSA
 - LTI EN EL PERU
 - VACUNAS DISPONIBLES EN AMERICA LATINA
 - DIAGNOSTICO ELEMENTAL
 - i. CARACTERISTICAS DE LA CONSTRUCCION DE UN AVACUNA VECTORIZADA
 - ii. MECANISMO BASICO DE UNA DE LAS VACUNAS DISPONIBLES
 - iii. NACIMIENTO DE LA INMUNIDAD
 - iv. REDUCCION DE NIVELES DE EXCRECION
- XIV. CONSIDERACIONES PARA UNA VACUNA VECTORIZADA
- XV. RECOMENDACIONES FINALES
- XVI. CONCLUSIONES
- XVII. BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

Las vacunas son productos orientados a generar inmunidad contra un patógeno específico a través de la producción de elementos llamados anticuerpos. Estos son sustancias formadas por el organismo orientadas a prevenir y defender. La utilización de vacunas implica el termino prevención vía estimulación del sistema inmune del organismo huésped. La defensa, consiste en el reconocimiento, destrucción y registro de microorganismos patógenos. De acuerdo a la OMS recibe la denominación de vacuna ***“cualquier preparación destinada a generar inmunidad contra una enfermedad estimulando la producción de anticuerpos”***.

El uso y aplicación de estos elementos (vacunas) se denomina “vacunación”, se define como la preparación del sistema inmune para proporcionar una respuesta adquirida, la misma que podría ser de tipo humoral o de tipo celular. De igual manera en el ámbito de la Inmunología existen dos términos comúnmente utilizados: “antígeno” y “anticuerpo”, se llaman “antígenos” a todas aquellas partículas extrañas al organismo que pueden tener una naturaleza viral, bacteriana o de otro origen que pueden provocar una respuesta inmune, “anticuerpo” sería la molécula generada por el sistema inmune; capaz de reconocer y eliminar al “antígeno” invasor.

ORIGENES

Los patógenos como tales, han sido reconocidos hace más de 3,000 años, esta práctica fue desarrollada en la China ancestral donde se ensayaban reacciones inmunes contra el azote que representaba en ese momento la Viruela, se administraba un machacado de costras y pústulas provenientes de pacientes infectados a gente (preferentemente niños) aparentemente sana, variaban en la frecuencia y en la dosis de administración para evaluar la respuesta y comprobar que quienes no se morían, no se enfermaban de viruela.

Posteriormente a ello, sobre los años 1300 y 1700 el Dr. Edward Jenner introdujo el concepto de la vacunación. Sus estudios estuvieron basados en las observaciones realizadas sobre mujeres que se dedicaban al ordeño y quienes contraían ocasionalmente una forma de “Viruela Bovina” en las manos. Estas personas, luego de este proceso; quedaban a salvo de contraer la Viruela común.



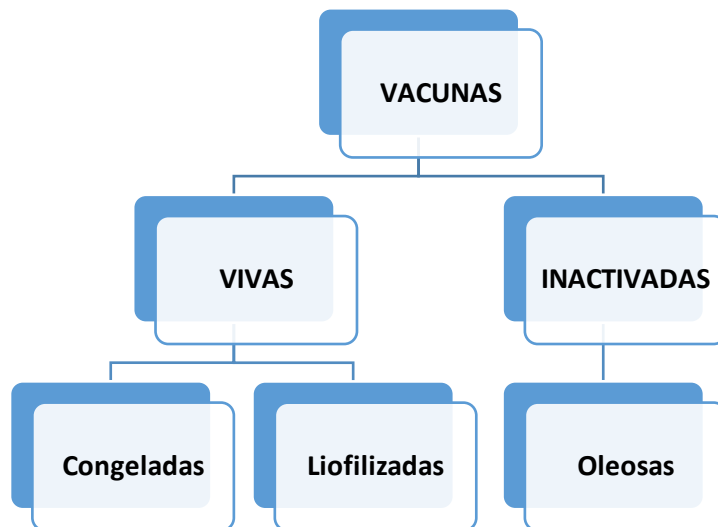
El Dr. Jenner, administro un fluido obtenido de las manos contaminadas por Viruela Bovina de la granjera Sarah Nelmes y lo inyectó en el brazo de James Phipps de 8 años de edad. El niño mostro síntomas de la infección de Viruela Bovina, 48 días posteriores a esta acción, Jenner infecta al niño con Viruela humana. El niño no mostro ningún síntoma o signo de la enfermedad. A partir de 1840, esta práctica fue extendiéndose por toda Europa y América, la segunda generación de vacunas fue desarrollada por el Dr. Louis Pasteur, quien elabora vacunas contra el Ántrax y el Cólera Aviar, fue Pasteur quien introdujo los términos de “Vacuna” y “Vacunación”, palabras que derivan del vocablo latino “Vacca” en honor a los trabajos desarrollados por el Dr. Jenner (USA CDC 2010).

La evolución en el entendimiento de los conceptos sobre inmunidad, demostraron inicialmente que era posible conseguir una mejor protección a partir de la utilización de elementos homólogos, sobre los cuales había que modificar su virulencia. En aquellos momentos jamás se manejaron conceptos relacionados a la activación inmunitaria y mucho menos a la memoria inmune. Estas premisas fueron desarrolladas casi 100 años



después por Frank Burnet y el posterior descubrimiento en 1965 del papel de los linfocitos T y B en la respuesta inmune (Sánchez – Vizcaíno, J.M., 2004)

**VACUNAS CLASICAS
O CONVENCIONALES
UTILIZADAS
ACTUALMENTE EN
AVICULTURA**



La prevención y el control de las enfermedades infecciosas es de gran importancia en la avicultura moderna de tipo industrial. La Bioseguridad bajo el concepto más básico de prevención, suele en algunos casos no ser suficiente para la protección requerida de un medio de producción tan intensa y con aves cada vez más susceptibles a las patologías actuales. Los requerimientos productivos generan sobrepoblaciones y crianzas de alta densidad, sumados a las modificaciones operadas en los agentes infecciosos, estas condiciones determinan que las principales medidas profilácticas deben de ser revisadas y actualizadas en virtud a los requerimientos actuales.

VACUNAS VIVAS

Por definición: *“Las vacunas vivas se diseñan a partir de microorganismos que han sido cultivados expresamente bajo condiciones en las cuales pierden o atenúan sus propiedades patógenas. Suelen provocar una respuesta inmunológica intensa pero no tan más duradera. Esto se debe a que el microorganismo, aunque está debilitado, no se encuentra inactivado y crea una ligera infección que es combatida de forma natural por el sistema inmune”* (OMS – USA 2009).

- 1) Durante la atenuación se utilizan (en algunos casos) huéspedes alternativos, la adaptación se logra por pasajes sucesivos, por adaptación a temperaturas de replicación no óptimas o por la utilización de métodos químicos de atenuación. **(López, M. et al.,2004)**
- 2) Independientemente al sistema de atenuación utilizado, lo importante es que los microorganismos replicados, pierdan su original patogenicidad, mantengan la capacidad de replicación y no produzcan lesiones en el huésped.
- 3) Una vacuna viva debe de tener una mayor capacidad de respuesta ya que activa todos los mecanismos de respuesta inmunitarios disponibles: presentación antigénica ligada a linfocitos, activación citotóxica, liberación de citoquinas, etc.

FORMAS DE PRESENTACION



VAC. CONGELADAS

- HVT
- HVT SB1
- RISPENS



VAC. LIOFILIZADAS

- NC BI
- IBD
- FOWL POX



VAC. SUSPENSION

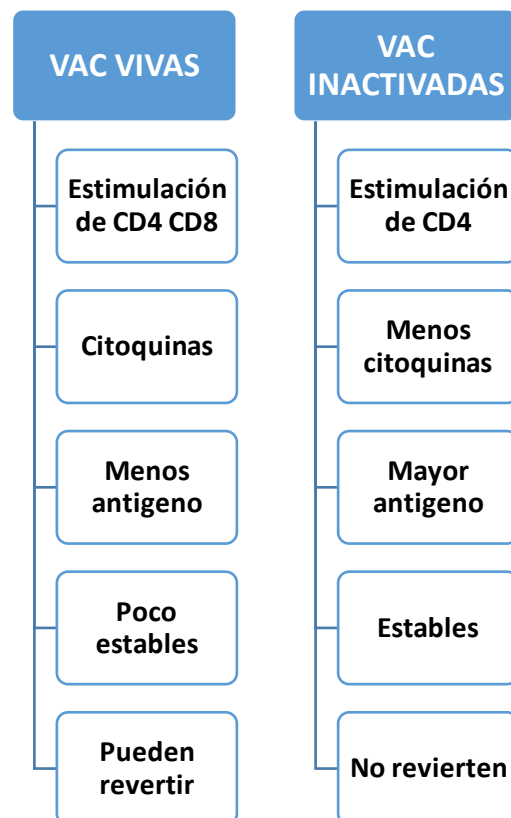
- COCCIDIA
- SALMONELLA

VACUNAS INACTIVADAS

Son compuestos generados a partir del tratamiento con productos químicos o calor, los cuales han provocado la muerte del patógeno pero manteniendo su estructura inicial. Su utilización genera menos efectos secundarios, una mayor reacción en el lugar de la aplicación pero induce una respuesta más alta y duradera. De manera general las vacunas inactivadas contienen una fase antigénica y un adyuvante. La parte antigénica está compuesta por los organismos inactivados completos o parte de sus estructuras antigénicas.

- 1) No requieren refrigeración, no representan una amenaza por una posible reconversión a la virulencia. Su respuesta es básicamente de tipo humoral
- 2) No replican en el ave, lo cual significa que requieren una mayor masa antigénica en su constitución
- 3) Los productos inactivantes utilizados en su fabricación podrían generar alteraciones en la respuesta inmune

DIFERENCIAS FUNCIONALES



PROBLEMAS ASOCIADOS AL USO DE VACUNAS TRADICIONALES

- a) **Reversión a la virulencia:** al parecer las características propias del agente patógeno, determinan que bajo cierto tipo de condiciones, este puede revertir a su condición original
- b) **Uniformidad de aplicación:** esta condición puede originar reacciones indebidas y poner en riesgo la salud y los parámetros productivos del lote vacunado
- c) **Diseminación no deseada:** los niveles de excreción posteriores a la vacunación, pueden generar la diseminación del agente a zonas o lugares no deseados.
- d) **Costos y procedimientos de aplicación:** Algunos productos particularmente las vacunas inactivadas son más costosas y exigen una mayor mano de obra especializada
- e) **Interferencia con anticuerpos maternos:** La colocación de vacunas vivas en presencia de altos niveles de anticuerpos maternos, puede determinar la inactivación parcial o total de la vacuna utilizada.
- f) **Protección insuficiente:** Si el producto utilizado no contiene la cepa apropiada, no se generara la inmunidad requerida
- g) **No diseminación colateral:** Las vacunas inactivadas podrían no generar los niveles de protección deseados, si estas no han sido colocadas de manera adecuada.
- h) **Efectos secundarios:** Estos inconvenientes pueden ser de tipo local (punto de aplicación) o sistémicos durante las fases de viremia.
- i) **No diferenciación entre aves vacunadas e infectadas:** No es posible poder diferenciar a los vacunados de los enfermos

CUADRO COMPARATIVO



NUEVAS ESTRATEGIAS DE CONTROL

Hasta el momento las vacunas tradicionales han brindado y continúan brindando una muy buena cobertura de protección, sin embargo la cada vez más exigente industria avícola desarrolla mayores retos y exige patrones de seguridad más intensos y seguros. Las cada vez menos toleradas reacciones post vacunales luego de la aplicación de una vacuna contra Newcastle o los brotes de LTI provocados por cepas de patogenicidad revertida, son factores absolutamente indeseables en una industria que trabaja cada día con mayores potenciales genéticos de desarrollo y con menores condiciones físicas de resistencia a las enfermedades. El avance de la tecnología del ADN recombinante, genera grandes expectativas para el desarrollo de vacunas que carecen de los problemas antes mencionados. En el presente estudio, nos dedicaremos a evaluar las principales características de una de estas nuevas opciones las llamadas “**Vacunas Vectorizadas**”, en las cuales uno o más genes de un patógeno son insertados en otro virus el cual actúa como agente vector. Vamos a proporcionar una breve descripción sobre su construcción, el desarrollo de la inmunidad conferida y algunos estudios comparativos vs los productos tradicionales.

VACUNAS VECTORIZADAS

Las vacunas vectorizadas o recombinantes, forman parte de una nueva generación de productos que usualmente utilizan algunos virus como “vectores”, para que estos codifiquen algunos antígenos previamente seleccionados de un virus “donador”. La respuesta inmune provocada en el huésped luego de la infección por el “vector” estará dirigida tanto al “vector” como contra los antígenos incluidos en el, obtenidos del “donador”; obteniéndose de esta manera una respuesta bivalente o multivalente por parte del huésped.

Es usual, que para incrementar la respuesta inmune; algunas vacunas vectorizadas utilicen genes inmunoestimuladores (interferón, interleucina, etc.), algunos de los vectores más utilizados en avicultura hasta el momento son: el virus Herpes de Pavo (HVT) de la Enfermedad de Marek, el virus de la Viruela Aviar (FPV), el virus de la Enfermedad de Newcastle (NDV) y el Adenovirus Aviar (AdV). De igual manera, los genes seleccionados para la creación de vacunas recombinantes, pertenecen a: Laringotraqueitis Infecciosa (LTI), Enfermedad de Newcastle (NDV), virus de Influenza Aviar, virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bolsa (IBD) y Mycoplasma gallisepticum (Mg).

Hasta el momento, se sabe que la eficacia de las vacunas vectorizadas depende de un conjunto de variables:

- a. Latencia y tipo del vector utilizado
- b. Inmunogenicidad
- c. Genes insertados
- d. Uso de promotores
- e. Vía de aplicación
- f. Características del patógeno
- g. Naturaleza de la respuesta inmune

Cuando mencionamos a los factores que pueden determinar la eficacia de una vacuna vectorizada, no podemos dejar mencionar algunos comentarios generados a partir de las evaluaciones realizadas

- I. Al parecer las vacunas vectorizadas disponibles hasta el momento, son más eficaces para patógenos invasivos sistémicos en comparación a otros de afección localizada.
- II. Las vacunas vectorizadas orientadas a un o pocos antígenos inmuno dominantes, pueden generar una respuesta más efectiva
- III. Una de las mayores características de control mostradas por las vacunas vectorizadas, es la disminución de los niveles de excreción del patógeno invasor.
- IV. Han demostrado ser una importante herramienta para el control de las enfermedades y pese a no utilizar adyuvantes específicos logran desarrollar una fuerte respuesta inmune
- V. Las vacunas vectorizadas están teniendo un mayor uso debido a la habilidad de inducir protección contra muestras heterologas y su habilidad para superar la interferencia de los anticuerpos maternos.
- VI. Un argumento muy importante para el uso de vacunas vectorizadas, es la facilidad de diferenciación entre infectados y animales vacunados (DIVA). Esto es particularmente importante para las enfermedades de declaración obligatoria como la Influenza Aviar (IA).

COMPARACION ENTRE VAC. TRADICIONALES vs VAC VECTORIZADAS

TIPOS DE VACUNAS

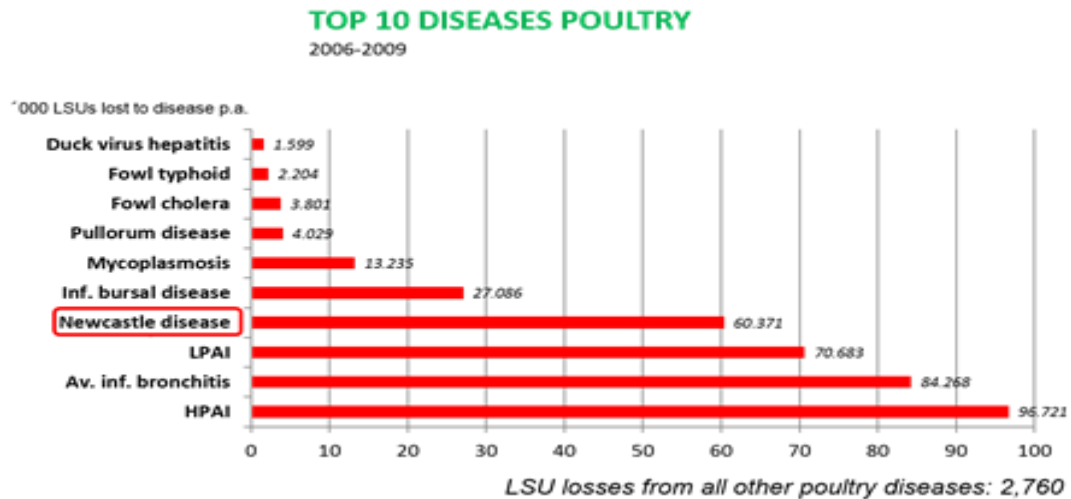
	Vac. Vivas	Vac. Vectorizadas	Vac. Inactivadas
Inmunidad local	+++	+++	-
Inmunidad celular	+++	+++	- / +
Aparición de la inmunidad	+++	+++	+
Interferencia con Ac Maternos	+ / +++	NO	++
Duración de la inmunidad	+	+++	+++
Lesiones locales	- / +++	NO	+ / +++
Reacciones post vacunales	- / +++	NO	+ / +++
Transmisión lateral	- / +++	NO	-
Estabilidad genética	- / +++	+++	+++
Costo	++	+++	++

VACUNAS VECTORIZADAS

CASO #1: CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

Antecedentes

La enfermedad de Newcastle (EN) es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa, la cual varía ampliamente en el tipo y severidad de síntomas. Es una enfermedad con connotaciones políticas ya que representa una de las principales barreras para el comercio internacional de las aves y productos avícolas. Sin embargo, a pesar de ser reconocida durante casi 90 años, ser causada por un solo serotipo de paramixovirus, y teniéndose disponibles vacunas muy eficientes, la EN sigue siendo un reto para los técnicos y los avicultores en todo el mundo.



Los signos clínicos y lesiones de la enfermedad no son patognomónicos, varían con la cepa viral, el huésped, la edad, el nivel de protección inmunológica y otros factores, estos pueden variar de 100% de mortalidad en aves no vacunadas a solo una baja en la producción de huevos en ponedoras aparentemente sanas y bien vacunadas (Miller P.J and Koch G., 2012).

Todas las aves son susceptibles a la infección (se han investigado infecciones en 241 especies), aunque el grado de la enfermedad varía de una especie a otra y en función de la cepa viral. Las aves silvestres pueden actuar como portadores o reservorios naturales, aunque la mayoría de las cepas aisladas han sido de baja virulencia para las aves de corral. Desde el punto de vista epidemiológico, las especies más susceptibles son las aves del género *Gallus gallus*

De acuerdo a las definiciones que se manejan, la enfermedad de Newcastle es causada por un Paramixovirus aviar del serotipo I, y según la OIE para ser considerado virulento, el aislado deberá de presentar un índice de patogenicidad intracerebral (IPIC) mayor a 0.7 y/o tendría que presentar aminoácidos básicos en el sitio de corte de la proteína de fusión y el aminoácido Fenilalanina en la posición 117 ya que la presencia de aminoácidos básicos en el sitio de rompimiento se correlaciona con cepas de alta virulencia

Recordemos también que las partículas virales contienen en su superficie dos glicoproteínas funcionales; la proteína de fusión (F) y la hemaglutinina-neuraminidasa (HN). La proteína F se encarga de mediar la fusión virus-célula y célula-célula. Por otro lado la proteína HN es multifuncional; reconoce receptores que contienen ácido sciálico en las células, promueve la actividad de la proteína de fusión permitiendo la entrada del virus a la célula y actúa como neuraminidasa en las partículas virales para evitar auto aglutinación de la progenie. Es de primordial importancia determinar la patogenicidad de una cepa de acuerdo al comportamiento biológico así como su estructura genética.

En nuestro País la enfermedad es endémica y su presencia se correlaciona fuertemente con los procesos de rehúso de cama y el rol que tienen las aves de riña como portadores potenciales del virus. Además de acuerdo a los trabajos de investigación realizados en la FMV de la UNMSM, se ha determinado que los Índices de patogenicidad intracraneana varían entre 1.68 y 1.87, siendo que la mayor parte de las cepas virulentas aisladas en el Perú pertenecen al genotipo XII y tan solo en uno de los aislados se determinó (entre el 2004 al 2010), una cepa del genotipo II.

CONTROL DE LA ENFERMEDAD Y SUS INCONVENIENTES

La vacunación así como la Bioseguridad, son parte importante de los programas de prevención contra esta enfermedad. Sin embargo, en países donde la EN es endémica, los pollitos de un día de edad poseen altos niveles de anticuerpos maternos que interfieren tanto con las vacunas vivas como con las vacunas inactivadas de la EN que se aplican en la incubadora hasta el punto en el que la neutralización es completa e inhiben el prendimiento de cualquier vacuna. Además, las vacunaciones llevadas a cabo en las granjas, ya sea para evitar esta interferencia temprana o para potencializar inmunizaciones previas, normalmente se realizan de manera deficiente. Finalmente, las vacunas vivas atenuadas, las cuales son la base de los programas de vacunación contra la EN en los pollos de engorde, pueden ser responsables de lesiones en la parte superior del tracto

respiratorio, lesiones post – vacunales y reacciones fuertes que disminuyen el crecimiento, afectan la uniformidad de las parvadas y dejan a las aves susceptibles a otros microorganismos patógenos.

Las vacunas actuales frente a la enfermedad de Newcastle se emplean ampliamente en la avicultura industrial y protegen a las aves vacunadas de la misma, pero no detienen la diseminación del virus desde animales infectados hacia los sanos. A pesar de todas estas prácticas, que en muchos casos son utilizadas en grado extremo; continúan ocurriendo brotes en las poblaciones vacunadas en muchas partes del mundo dando la idea que las vacunas actuales protegen menos

Para incrementar la controversia sobre la eficiencia protectora de las vacunas vivas sobre el avance de la enfermedad, se dio a conocer la siguiente hipótesis: ***“Las vacunas de virus vivos atenuados que protegen a las aves de corral contra la enfermedad de Newcastle puede estar alterando la composición genética de las cepas de virus salvajes, que podrían causar que los futuros brotes sean impredecibles y difíciles de controlar”***

Una vacuna de virus vivo modificado es esencialmente un virus debilitado que no causa enfermedad, pero imita una infección natural que, a su vez provoca una respuesta inmune fuerte desde el huésped infectado. Pero los expertos sostienen que la vacunación, sin darse cuenta, podría estar aumentando la diversidad del virus de la enfermedad de Newcastle que están circulando entre las aves silvestres.

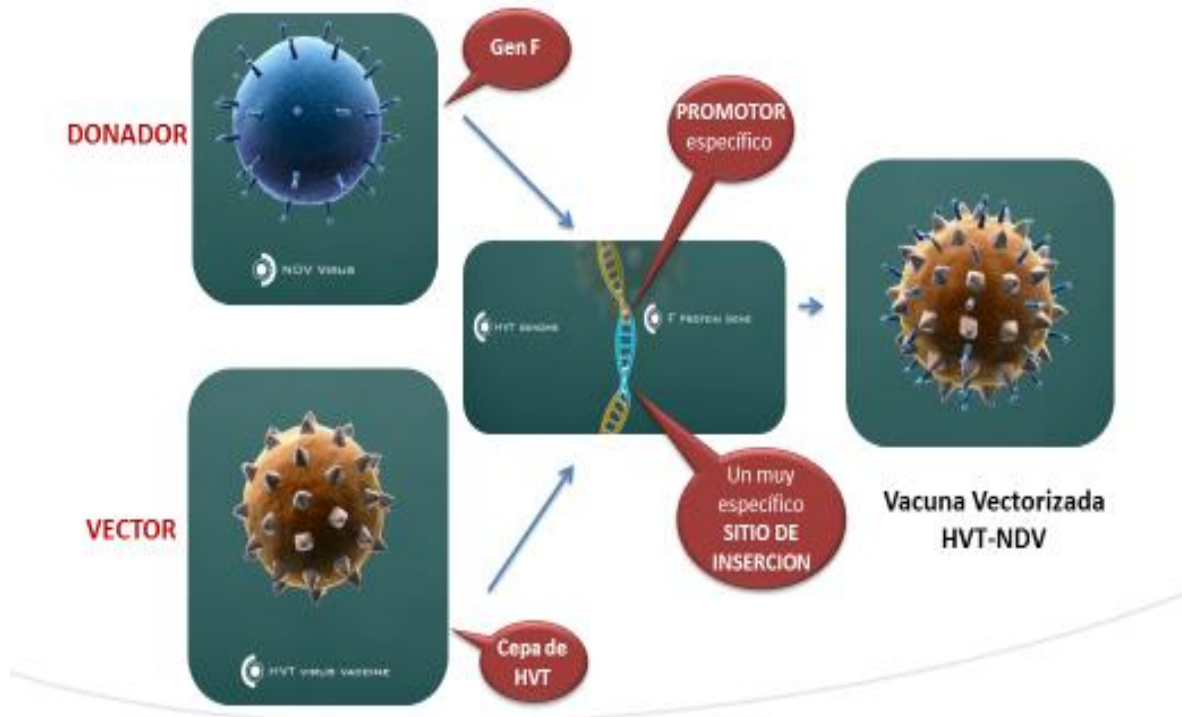
Un ave podría estar infectada con dos virus diferentes al mismo tiempo, el vacunal y el patógeno de forma natural, y luego ambos virus infectan la misma célula. Además de la posibilidad de crear nuevos virus, las diferentes cepas del virus que causa la enfermedad de Newcastle pueden estar transformándose en diferentes ambientes.

Durante los últimos años debido a la demostración de las variaciones antigénicas entre cepas del NDV de diferentes genotipos en varias partes del mundo, se considera fundamental que la vacunación de las aves no solo tenga como objetivo estimular una respuesta inmune de larga duración sino que además deba de disminuir las reacciones secundarias a la vacunación, logrando controlar adecuadamente la excreción viral en las aves.

HVT ND (rHVT – F)

Dentro de este contexto, era necesario una nueva generación de vacunas y la tecnología de vector con las vacunas recombinantes rHVT-F permite disponer de varios productos de esta naturaleza.

➤ Vacuna Vectorizada HVT-NDV



Estructura básica de la rHVT – F: Virus donador (VNC), Virus Vector (HVT), Gen de Inserción (Proteína F), Promotor y lugar de inserción

La proteína “F” (de “fusión”) es el epítipo presente en la superficie del virus de la EN (VEN), permitiéndole unirse y penetrar las células blanco. Uno puede fácilmente entender que si se construye una inmunidad contra la proteína “F”, entonces la ENC ya no puede infectar las células y causar daños, lo cual posiblemente explica la eficacia increíblemente alta de un producto del tipo rHVT – F. Las aves vacunadas no solo están protegidas contra las consecuencias clínicas y económicas de la infección, sino que la replicación del VEN dentro del organismo del ave también es obstaculizada, como se indica por la significativa reducción en la eliminación del virus de desafío, así como por un aumento limitado del título de anticuerpos después de la infección.

Grafico N° 1: Inicio de la protección comparativa con una vacuna rHVT – F
Protección clínica contra desafío de vvNDV

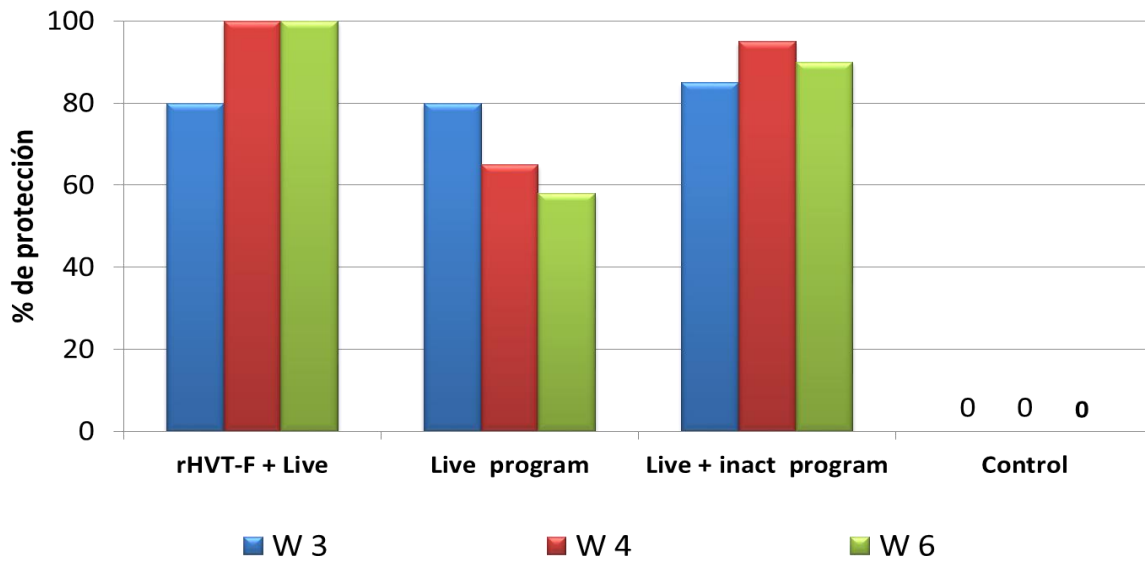
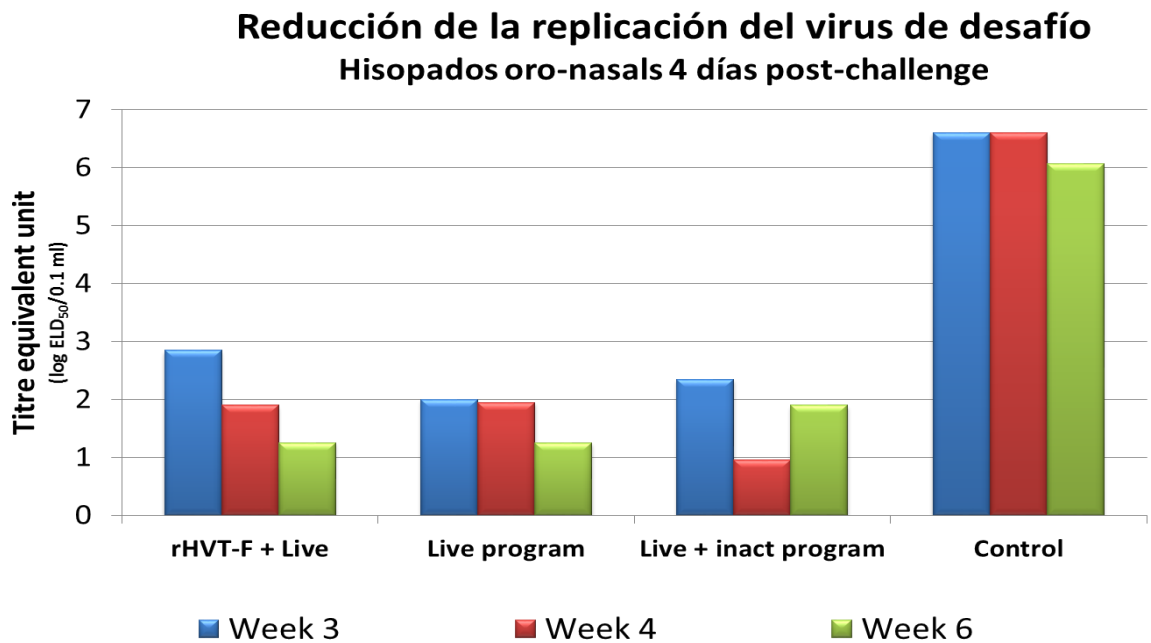


Grafico N° 2: Reducción de los niveles de excreción viral

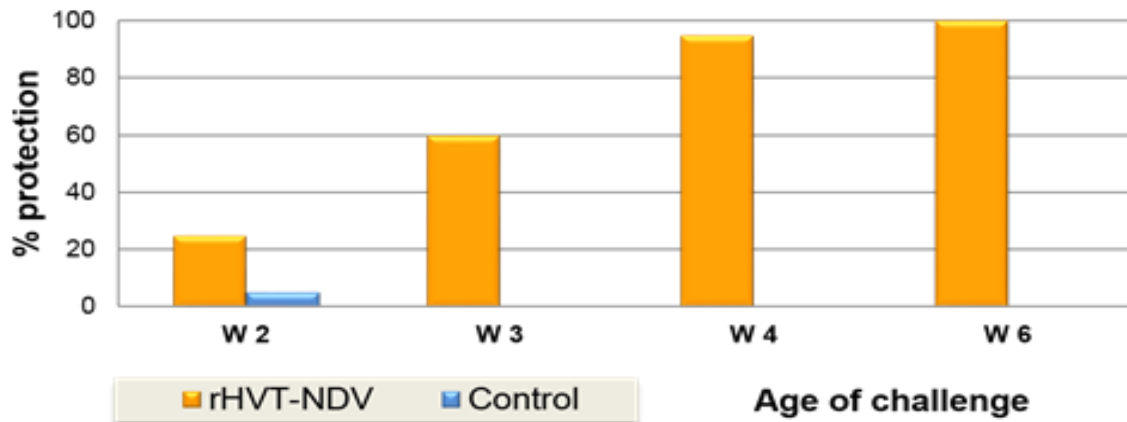


Las vacunas del tipo rHVT – F son vacunas que utilizan un virus de Marek del tipo HVT como vector, en cuyo genoma ha sido colocado el gen “F” extraído de un genotipo I del virus de la EN (VEN) (cepa D26). La cepa HVT utilizada (FC 126), su origen, el bajo número de países que ha experimentado, la inserción del gen “F”, el sitio de inserción, y el promotor seleccionado para asegurar la expresión del gen F, son elementos claves que explican la singularidad de algunas de estas vacunas

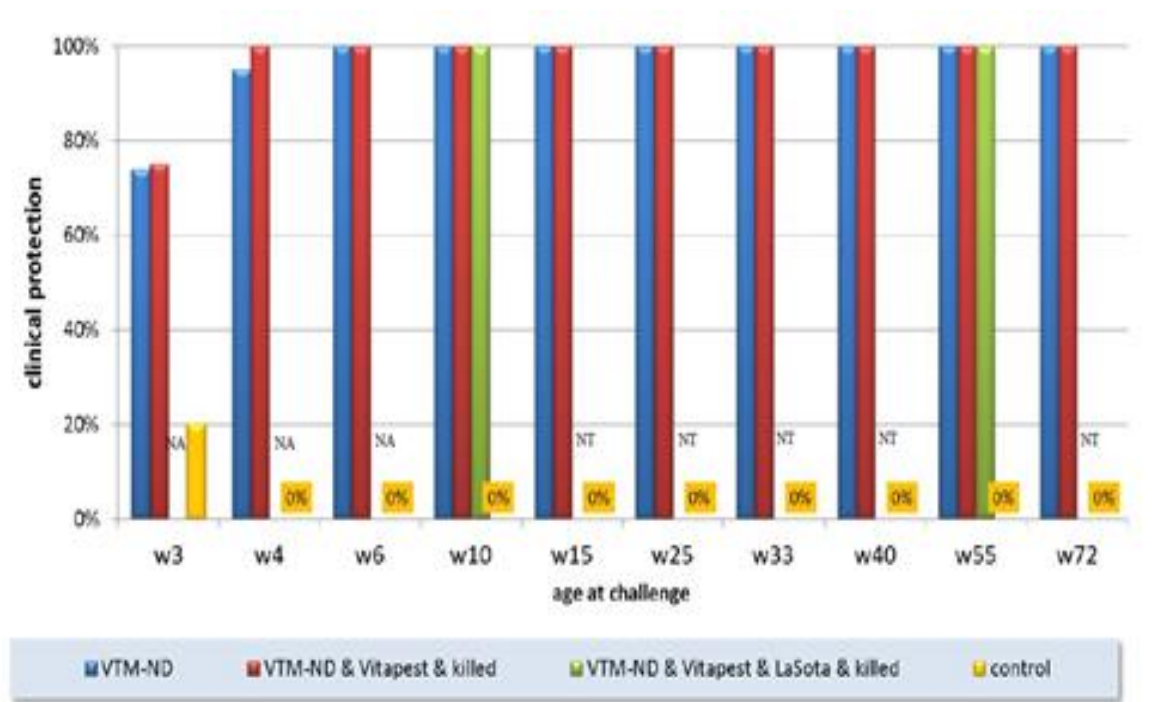
La proteína “F” (de “fusión”) es el epítipo presente en la superficie del virus de la EN (VEN), permitiéndole unirse y penetrar las células blanco. Podemos asumir que si construimos una sólida inmunidad contra la proteína “F”, entonces el VEN no podrá infectar las células y causar daños, lo cual posiblemente explica la eficacia increíblemente alta de una vacuna del tipo rHVT - F. Los pollos vacunados no solo están protegidos contra las consecuencias clínicas y económicas de la infección, sino que la replicación del VEN dentro del organismo del ave también es obstaculizada, como se indica por la significativa reducción en la eliminación del virus de desafío, así como por un aumento limitado del título de anticuerpos después de la infección.

El inicio de la inmunidad inducida por una vacuna del tipo rHVT - F, depende directamente de la replicación del vector (HVT) y consecuentemente de la expresión del gen F del VEN. La protección aumenta de manera progresiva con el tiempo, alcanzándose una protección completa alrededor de las 3 a 4 semanas de edad. De hecho, la inmunidad puede ser detectada a las dos semanas después de la vacunación. Sin embargo, con el fin de fortalecer la protección durante las primeras semanas de edad en áreas que tienen una alta presión de la EN, el programa de uso de este producto incluye la necesaria administración de una vacuna viva de la EN por aspersión al día de edad (en la incubadora) y dependiendo del caso (niveles de desafío zonales), se recomienda aplicar un refuerzo alrededor de los 10 a 15 días de edad utilizando preferentemente una vacuna viva del tipo La Sota.

Protection against vvNDV challenge (Clinical protection)



DURACION DE LA INMUNIDAD



Una de las tendencias de la industria del huevo es mantener a las gallinas ponedoras por más tiempo en las granjas. De hecho, este enfoque tiene un impacto económico positivo en los costos de producción, pero la duración de la inmunidad inducida por las vacunas ha sido cuestionada. De hecho, la vacuna de tipo rHVT - F está construida de un Herpes virus de pavo como vector (HVT). El HVT permanece en las aves durante toda su vida y su replicación “refuerza constantemente” la protección contra la EN.

Espectro de Protección

Genotype	Strain	Origin	Type of bird	Challenge age (weeks)	Protection rate (%)	
					Vaccinated	Controls
II	Texas GB strain	USA reference challenge strain	SPF	4	100	0
II	Texas GB strain	USA reference challenge strain	Commercial layers	19	100	0
II	HB1 vacine strain	USA	Commercial broilers	1 / 2 / 3 / 4 / 5	0 / 10 / 60 / 90 / 100	0 / 0 / 0 / 0 / 0
II	HB1 vacine strain	USA	Commercial turkeys	1 / 2 / 3 / 4 / 5	100 / 67 / 33 / 80 / 100	44 / 0 / 0 / 0 / 0
IV	Herts 33/56	EU reference challenge strain	SPF	4	100	0
IV	Herts 33/56	EU reference challenge strain	Commercial broilers	3	95	0
IV	JEL strain	Morocco	SPF	6	100	0
V	APMV1/chicken/Mexico/D516/1/2008	Mexico	SPF	4	100	0
V	APMV1/chicken/Mexico/D516/1/2008	Mexico	Commercial broiler	3 / 4 / 6	81 / 95 / 100	0 / 0 / 0
V	Chimalhuacan strain	Mexico	Commercial broilers	2 / 3 / 4 / 5	0 / 84 / 100 / 100	0 / 0 / 0 / 0
V	Chimalhuacan strain	Mexico	Commercial layers	5	70	0
VII	Lopburi	Thailand	Commercial layers	2 / 3 / 4	90 / 100 / 100	90 / 70 / 10
VIIa	D1598/1/11/PH	Philippines	SPF	4	100	0
VIIa	D1675/11	Indonesia	Commercial layers	3 / 5 / 8 / 10	48 / 90 / 100 / 100	0 / 0 / 0 / 0
VIIb	D575/6 PE	Peru	SPF	4	100	0
VIIc	D1435/3/3/SA/10	Saudi Arabia	SPF	4	100	0
VIIc	D1500/2/1/10/CN	China	SPF	4	100	0
VIIc	GPMV 171/06/ZA (Goose Paramyxovirus)	South Africa	Commercial broilers	3 / 4 / 5	100 / 100 / 100	0 / 0 / 0
VIIc	GPMV 171/06/ZA (Goose Paramyxovirus)	South Africa	Commercial layers	72	100	0
VIIh	D1524/1/1,2/MY/10	Malaysia	SPF	2 / 3 / 4 / 6 / 8	95 / 90 / 100 / 100 / 100	0 / 0 / 0 / 0 / 0
VIIh	D1524/1/1,2/MY/10	Malaysia	Commercial broilers	2 / 3 / 4 / 6	25 / 68 / 95 / 100	5 / 0 / 0 / 0
VIIh	D1524/1/1,2/MY/10	Malaysia	Commercial layers	3 / 4 / 6 / 10 / 15 / 25 / 34 / 40 / 55 / 72	74 / 95 / 100 / 100 / 100 / 100 / 100 / 100 / 100 / 100	20 / 0 / 0 / 0 / 0 / 0 / 0 / 0 / 0 / 0
VIII	RB Daagstan ND/01/ZA	South Africa	SPF	4	100	0



32

Todos los virus de la EN pertenecen a un solo serotipo (PVM1), por lo que, por definición, cualquier cepa del VEN utilizada para preparar una vacuna deberá inducir una protección contra la morbilidad y la mortalidad que sigue al desafío con cualquier cepa virulenta del VEN. Sin embargo, con la mejoría y la “popularización” de las técnicas moleculares, se han identificado distintos genotipos del VEN en distintas áreas geográficas, y han surgido preguntas sobre la protección inducida por las vacunas contra estos genotipos. En particular, las cepas vacunales homólogas a los virus de campo locales, originalmente fueron consideradas una opción promisoriosa. La siguiente tabla resume todas las cepas contra las cuales una vacuna tipo rHVT – F ha sido probada y ha demostrado su protección.

CASO #2: CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE LARINGOTRAQUEITIS

La Laringotraqueitis Infecciosa (LTI) es una enfermedad provocada por un agente viral que afecta al aparato respiratorio de las aves y que generalmente está presente en zonas de producción donde existen grandes concentraciones de aves. Esta dolencia produce importantes pérdidas económicas, considerando las alteraciones productivas que genera como: altos niveles de mortalidad, disminución de la ganancia de peso, caída en la producción de huevos y un marcado incremento en los costos de medicación.

El agente causal es un virus DNA del tipo Gallid Herpesvirus 1, familia Herpesvirus, sub familia Alfaherpesviridae. Una de sus mayores características es la de provocar una condición de latencia



(característica fundamental de los Herpesvirus) la cual le permite ser considerado como extremadamente peligroso. La llamada “**fase de latencia**” es un proceso infeccioso que tiende a revertir cuando se dan ciertas condiciones favorables de replicación, esta fase de latencia puede durar toda la vida del huésped.

LTI EN EL PERU

La enfermedad fue reportada por primera vez en agosto del 2008 y se caracterizó por formas de extrema virulencia: rápida propagación, alta mortalidad (mayor a 40%), acompañada por cuadros respiratorios característicos (jadeo, extensión del cuello), tos, crepitaciones, expulsión de coágulos sanguíneos en paredes y piso, taponamiento caseoso de la tráquea, etc. Hasta por formas de más lenta diseminación, en esta condición el inicio de los cuadros respiratorios son más lentos, la morbilidad tarda en propagarse en la parvada y la mortalidad suele ser de menor intensidad, básicamente acompañada por infecciones secundarias. Los porcentajes de aves muertas suelen ubicarse entre 10 a 20 %, las lesiones a la necropsia determinan la presencia de un exudado mucoso sanguinolento entre la laringe y la tráquea. Se notó también una forma más benigna o menos agresiva, acompañada de ruidos respiratorios, descarga nasal, caída de producción y huevos, decaimiento general, pérdida de apetito y condición física. En las evaluaciones post-mortem se confirman las placas y tapones caseosos en laringe y tráquea. Un detalle, que en el caso peruano acompaña a los cuadros de menor intensidad fueron lesiones y/o sintomatología similares a las descritas en los casos compatibles con Pmetapneumovirus (SCH), conjuntivitis, blefaritis y sinusitis.

VACUNAS DISPONIBLES EN AMERICA LATINA

PAÍS	Vivas convencionales		Vivas vectorizadas	
	CEO	TCO	FP-LT	HVT-LT
1. Argentina	No	Si	Si	Si
2. Bolivia	Si	Si	Si	Si
3. Brasil	No	No	Si	Si
4. Chile	Si	Si	No	No
5. Colombia	Si	Si	Si	Si
6. Costa Rica	No	No	Si	No
7. Ecuador	No	No	Si	Si
8. México	Si	Si	Si	Si
9. Perú	No	No	Si	Si
TOTAL	4	6	8	6

****En los lugares donde NO se permite el uso de vacunas vivas, es principalmente por la condición de reversión a la virulencia de las mismas**

DIAGNOSTICO ELEMENTAL

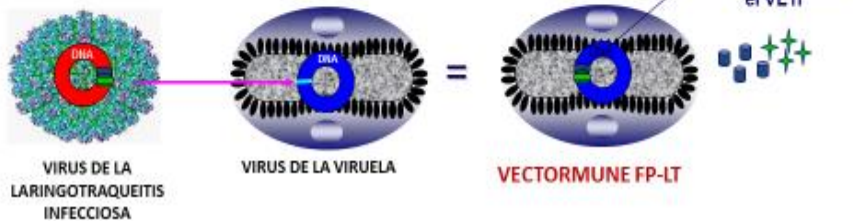
Por ser una enfermedad de características particulares, los signos y lesiones forman parte de la condición elemental para un diagnóstico adecuado. La sintomatología descrita incluye: conjuntivitis, lagrimeo, ojos almendrados, blefaritis, etc. Los estertores, quejidos y la expulsión de sangre forman parte de las condiciones más populares. Las lesiones en tráquea y laringe suelen ser comunes para muchas patologías respiratorias, pero la presencia de Corpúsculos de Inclusión forma parte de las lesiones consideradas patognomónicas, en todos los casos el factor más importante de todos es demostrar la presencia del virus.

Características de la construcción de una vacuna vectorizada contra LTI

	rFP LT	rHVT LT
Cepa del vector	Cepa viruela – Cepa Cutter	HVT cepa Witter bajo pasaje
Sitio de inserción	3.0-kb HpaI-SpeI fragmento genómico	UL 45-46
Gen	gB, UL 32 (+ gen marcador)	gB (+ gen marcador)
Fuente del Gen	Cepa de campo 632 EUA, cepa virulenta japonesa NS-175	Cepa virulenta de campo de los EUA
Promotor	Promotor del Pox virus	PEC

rFP-LT

- **Donador** – virus (VLTi) que dona los genes que expresan proteínas antigénicas.
- **Vector** – virus vivo (viruela) en lo cual se inserta los genes del VLTi.

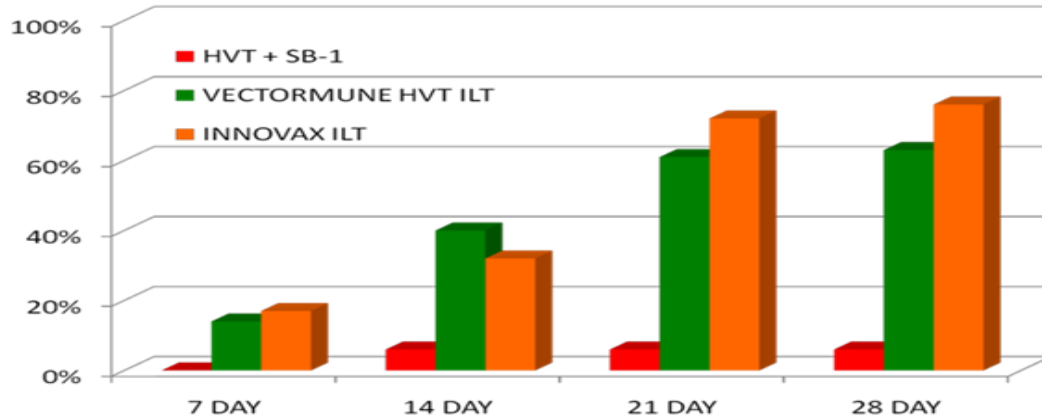


Mecanismo básico de una de las vacunas disponibles

- A. Segura en gallinas
 - a. Sin reversión a la virulencia
 - b. Sin diseminación a las aves no vacunadas
 - c. Tiene el mismo tropismo a los tejidos que las cepas que trabajan como vector
- B. Segura en otras especies
- C. Segura en mamíferos
- D. Estable al medio ambiente
- E. No induce a la enfermedad en ninguna de sus formas, genera una alta tasa de inmunidad celular contra las fracciones antigénicas utilizadas como genes de inserción
- F. No genera alteraciones al desempeño productivo y/o sanitario de las aves vacunadas

Características	DISPONIBILIDAD EN MERCADO PERUANO	
	rFP - LT	rHVT - LT
Virus vector vivo	Viruela aviar	Marek (HVT)
Vías de aplicación	In ovo Subcutánea Punción alar	In ovo Subcutánea
Edad de aplicación	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Embrión con 18-19 días ✓ 1º día de vida ✓ 4-8 semanas 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Embrión con 18-19 días ✓ 1er día de vida
Protección contra	Viruela aviar Laringotraqueitis	Enfermedad de Marek Laringotraqueitis

Nacimiento de la inmunidad en 2 vacunas comerciales de tipo rHVT LT

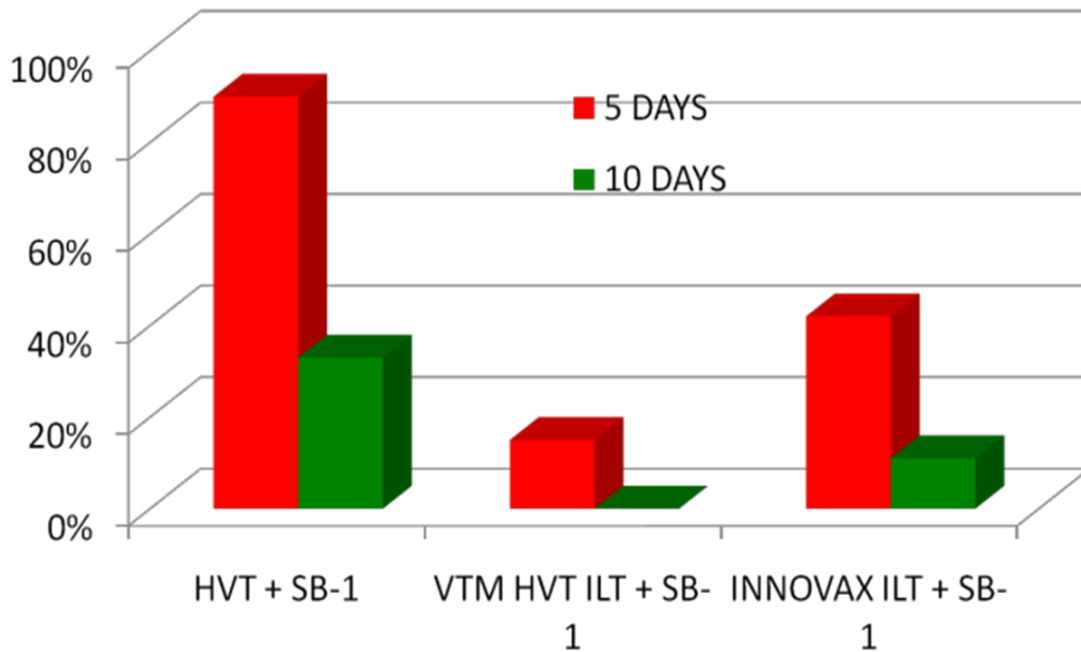


Evaluaciones que demuestran la eficacia protectora de vacunas de tipo rHVT LT y/o rFP LT

Porcentajes de protección en pruebas de desafío

	Aves con signos de LTI (0-6 d Post desafío)	Aves con signos de LTI (7-14 d Post desafío)	% protección	Aves con lesiones en tráquea a los 14 días	% protección
Spf control	0/5	4/4	0	3 /4	0
30 semanas	0/10	0/10	100	2/10	80
40 semanas	0/10	0/10	100	0/10	100
50 semanas	0/10	0/10	100	2/10	80

Reducción de los niveles de excreción viral luego de pruebas de desafío



Consideraciones para tener una vacuna vectorizada

1. Donadores actuales:
 - a. Newcastle
 - b. Influenza aviar
 - c. Enfermedad Infecciosa de la Bolsa
 - d. Laringotraqueitis Infecciosa
 - e. *Mycoplasma gallisepticum*
 - f. En el futuro: ¿Bronquitis Infecciosa? ¿*Mycoplasma sinoviae*?
2. Vectores actuales:
 - a. Virus de Marek (Serotipo 3 – HVT y Serotipo 1 Rispens)
 - b. Viruela Infecciosa Aviar (Cepa CEO)
 - c. Newcastle (Cepa lentogenica)
 - d. En el futuro: ¿Adenovirus? ¿Salmonella?

RECOMENDACIONES FINALES

- A. Las vacunas vectorizadas de tipo comercial, son totalmente diferentes entre si
- B. Características a tener en cuenta para el buen desarrollo de las vacunas vectorizadas
 - a. Es importante considerar el tipo de vector y su Biología, al momento de la selección
 - b. Se debe de considerar las características biológicas e inmunológicas del virus donador
 - c. Hay que considerar las particularidades antigénicas de los genes insertados
 - d. Se debe de observar las características y requerimientos del Promotor utilizado
 - e. Es importante considerar la compatibilidad con otras vacunas

CONCLUSIONES

- 1) La tecnología de vacunas vectorizadas ha demostrado generar productos eficaces y seguros para el control de los desafíos actuales
- 2) Las vacunas vectorizadas son una herramienta para el control y erradicación de algunas enfermedades pero son el complemento de medidas de Bioseguridad
- 3) La eficacia de las vacunas vectorizadas depende de algunas variables: el tipo de vector, el gen insertado, el o los promotores utilizados, la vía y eficiencia de su aplicación.
- 4) La naturaleza de la respuesta inducida es básicamente de tipo celular aunque también existe una importante respuesta humoral.

BIBLIOGRAFIA

1. Back to the past: do vector vaccines represent the future – K. Schat – FACTA 2009
2. Current and Future Applications of viral – Vectored Recombinant Vaccines in Poultry – Natalie Armour and Maricarmen Garcia – The Poultry Informed Professional 2009
3. Developments in Viral Vector – Based Vaccines – Takeiro Ura, Kemji Okuda – Vaccines 2008
4. Immunologic Basis of Vaccine Vectors – Margaret Liu – Immunity Review 2008
5. Multivalent and Multipathogen Viral Vector Vaccines – Katharina Lauer, Ray Borrow – Clinical and Vaccine Immunology 2005
6. Patógena antigénicamente distintos con una vacuna viva que expresa el gen de la hemaglutinina derivado de un virus de la Influenza Aviar – Darrel R. Kapczynski, Motoyuki Esaki, Kristi Dorsey – Unidad de Investigación de Enfermedades Aviares, Laboratorio de Investigación Científica USDA 2010
7. Protección de pollos contra cepas del virus H5 de la Influenza Aviar altamente
8. Recent advances in viral vectors in veterinary vaccinology – Michael Baron, Munir Iqbal, Venugopal Nair – Science Direct, ELSEVIER 2009
9. Viral vectors for vaccine applications – Youngjoo Choi, Jun Chang – Clinical and Experimental Vaccine Research 2007