



**EVALUACIÓN DE PROTECCIÓN DE
CEVAC® IBIRD + CEVAC® BRON 120 L
CONTRA IBV VAR2 (GI 23) EN
GALLINAS DE POSTURA**

Balázs Felföldi, Edit Walkó-Kovács, Tímea Tatár-Kis,
Zalán Homonnay, István Kiss

Scientific Support and Investigation Unit, Ceva Phylaxia

Juntos, más allá de la Salud Animal



EVALUACIÓN DE PROTECCIÓN DE CEVAC® IBIRD + CEVAC® BRON 120 L CONTRA IBV VAR2 (GI 23) EN GALLINAS DE POSTURA

BALÁZS FELFÖLDI, EDIT WALKÓ-KOVÁCS, TÍMEA TATÁR-KIS, ZALÁN HOMONNAY, ISTVÁN KISS

SCIENTIFIC SUPPORT AND INVESTIGATION UNIT, CEVA PHYLAXIA

INTRODUCCIÓN:

El coronavirus aviar, conocido como virus de la bronquitis infecciosa (IBV), es un patógeno de rápida evolución debido a la alta frecuencia de mutaciones y eventos de recombinación característicos de los coronavirus. Esto conduce a la continua aparición de genotipos novedosos que requieren un seguimiento continuo de la protección efectiva contra el virus. La respuesta inmunitaria frente al IBV es compleja y, a pesar de los programas intensivos de vacunación con las vacunas vivas atenuadas e inactivadas actualmente disponibles, el virus continúa circulando, evolucionando y ocasionando brotes en todo el mundo.

Los numerosos y rápidamente cambiantes tipos genéticos y antigénicos de IBV se clasifican actualmente, con base en la secuencia completa del gen S1, en 42 linajes agrupados en diez genotipos. La mayoría de los linajes (29) se incluye en el genotipo I (GI). "Variante 2" (Israel/Variant 2/1998) es la cepa prototipo del linaje GI 23 y, desde su surgimiento a mediados de la década de 1990 en Medio Oriente, este linaje ha evolucionado hacia múltiples cepas genéticamente relacionadas y se ha diseminado a cinco continentes.

Las infecciones causadas por cepas de IBV Variante 2 se caracterizan por su alta virulencia y marcado nefrotropismo y nefropatogenicidad; sin embargo, los mecanismos moleculares que subyacen a estas características aún no han sido dilucidados.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Determinar si **una sola vacunación** al nacimiento con **IBird + cepa Massachussets (Bron 120 L)** ofrece **protección duradera y heteróloga** frente a IBV variante 2 después de 9 semanas.

Se evaluaron:

- Síntomas respiratorios
- Ciliostasis en tráquea
- Lesiones histológicas en tráquea y riñón
- Replicación y excreción del virus del desafío

DISEÑO EXPERIMENTAL

- Pollitas comerciales (Tetra-SL Brown) de 1 día de edad se dividieron en 2 grupos de acuerdo a la vacunación y después en subgrupos de acuerdo al desafío, como se describe en la siguiente Tabla:

Grupo	Vacunación día de edad gota en el ojo		Subgrupo	Desafío (9 semanas) (Var-2-type;GI-23.1 Gota en el ojo)	
Vacunado	Cevac IBird + Cevac Bron 120 L	n=30	Vacunado-Desafiado	Si	n=20
			Vacunado-No desafiado	No	n=10
Control	No	n=30	No vacunado Desafiado	Si	n=20
			No vacunado No desafiado	No	n=10

Evaluación 5 días post desafío

Vacunación

Desafío

Evaluación

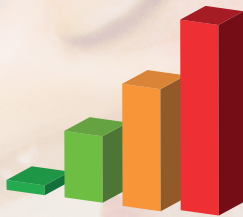
Día de edad

9 semanas de edad

5 días post-desafío

RESULTADOS PRINCIPALES

1. Protección clínica



Escala Respiratoria

0 = no síntomas

1 = respiración normal, estertores ocasionales.

2 = dificultad para respirar, estertores constantes

3 = dificultad para respirar, boqueo y estertores



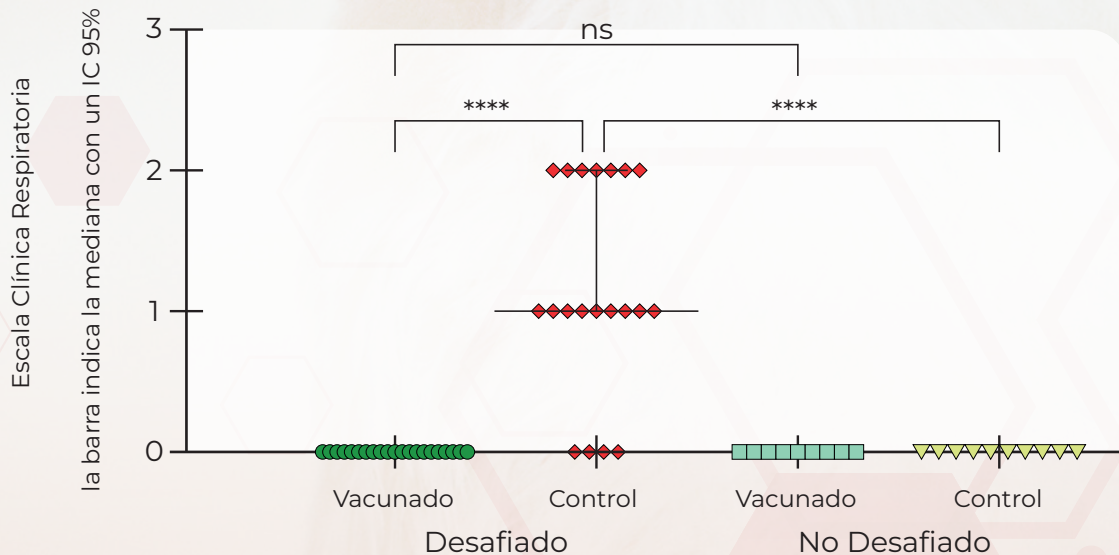
Las aves vacunadas y desafiadas no mostraron signos respiratorios.



El grupo control desafiado presentó síntomas respiratorios leves a moderados como estertores y dificultad para respirar



Diferencia **altamente significativa de la reducción de síntomas** entre los grupos vacunados y no vacunados desafiados



2. Protección contra ciliostasis

Se evaluaron 3 anillos de la parte superior, 4 del medio y 3 de la inferior de la tráquea de acuerdo a la Pharmacopea Europea. Los anillos fueron examinados microscópicamente de acuerdo a la siguiente tabla:

0: 100% movimiento ciliar

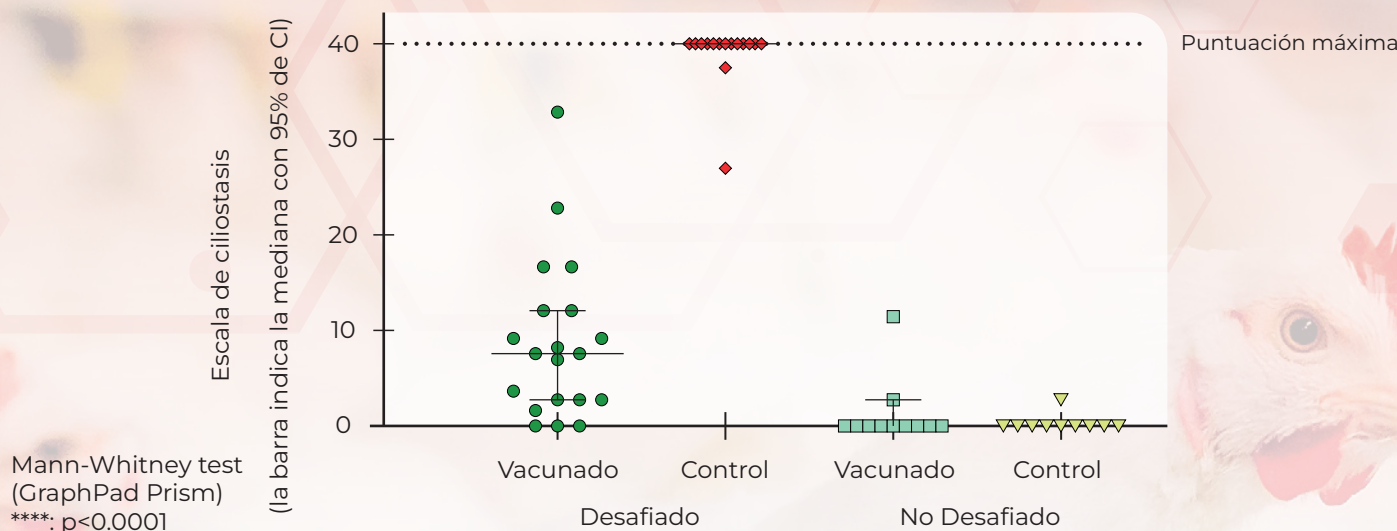
1: 75% a 99% de movimiento ciliar

2: 50% a 74% de movimiento ciliar

3: 25% a 49% de movimiento ciliar

4: menos del 25% de movimiento ciliar

- El grupo control desafiado mostró una pérdida completa de la actividad ciliar en el 90% de las aves y una actividad fuertemente reducida en el 10% de los pollos (0% de protección según la Farmacopea Europea), validando la infección de desafío.
- **En el grupo vacunado y desafiado, la reducción de los puntajes de ciliostasis fue altamente significativa en comparación con el grupo control.** Lo que resultó en un nivel de protección del 90% según la Farmacopea Europea.



Grupo control desafiado: **pérdida total de actividad ciliar (0% protección).**



Grupo vacunado desafiado: **90% de protección según Eur. Ph.**



Reducción estadísticamente muy significativa.

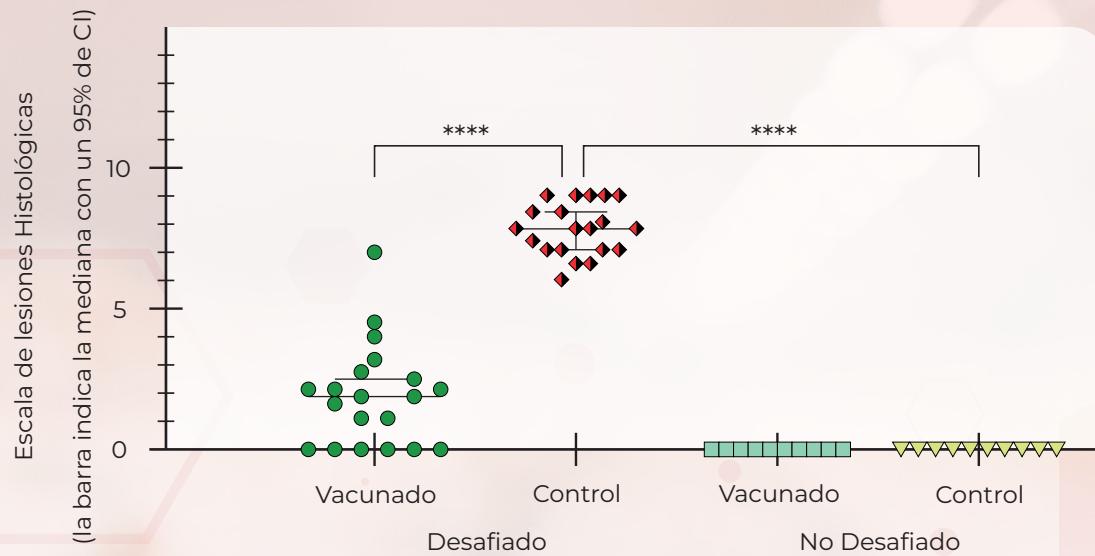
3. Lesiones histológicas

Se tomaron muestras de **cuatro porciones de la tráquea** (de los tercios superior e inferior) y de **un lóbulo renal**, las cuales fueron procesadas y teñidas con **hematoxilina-eosina**.

Las lesiones fueron calificadas de acuerdo con el siguiente sistema de puntuación:

0 = Normal; 1 = Lesiones leves; 2 = Lesiones moderadas; 3 = Lesiones severas

- **Tráquea:** se evaluó **disminución ciliar, degeneración epitelial e infiltración linfohistiocítica**. Se calculó la media de los resultados obtenidos en los **cuatro anillos traqueales** por categoría y posteriormente se sumó (puntuación máxima: **12**).
- Las muestras de tráquea del grupo control desafiado mostraron puntajes de lesión uniformemente altos, lo que evidencia un daño tisular severo
- En el grupo vacunado y desafiado los puntajes de lesión fueron significativamente menores en comparación con los controles desafiados demostrando una protección tisular adecuada contra el desafío



Mann-Whitney test
(GraphPad Prism)
****: $p < 0.0001$

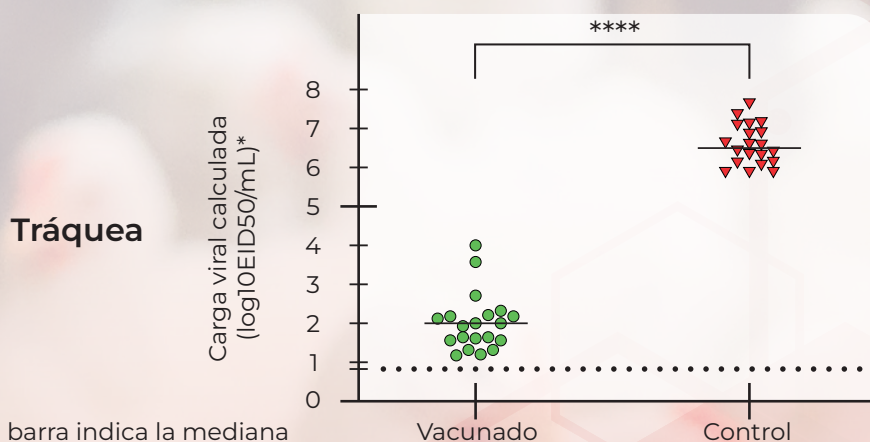
Kruskal-Wallis test with Dunn's pairwise comparisons (GraphPad Prism)
****: $p < 0.0001$

4. Reducción de replicación viral

La cuantificación de la carga viral post-desafío (5 días post-desafío, 5 *dpch*) se realizó empleando muestras de tráquea y riñón, así como hisopados oro-nasales y cloacales.

En el grupo vacunado, la **carga viral se redujo de manera significativa:**

- 4 unidades $\log_{10}$ en tráquea
- 1 unidad $\log_{10}$ en riñón



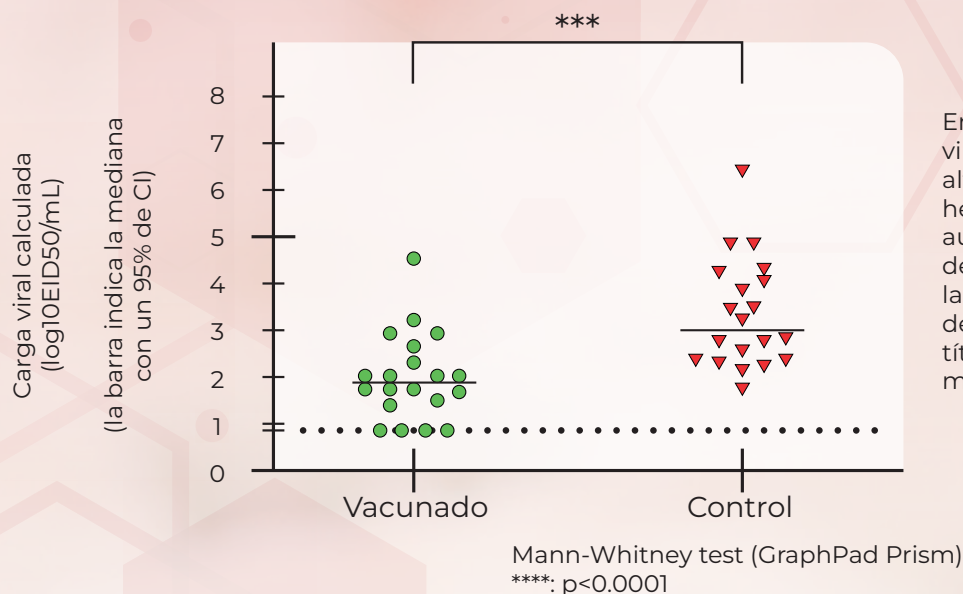
*(la barra indica la mediana con un 95% de CI)

Se observó una replicación viral del virus de desafío uniforme y muy intensa en la tráquea de los animales control desafiados.

neg.

Mann-Whitney test
(GraphPad Prism)
****: $p < 0.0001$

Riñón



En el riñón, la carga viral de IBV fue altamente heterogénea aunque pudo detectarse en todas las aves control desafiadas, con un título medio moderado

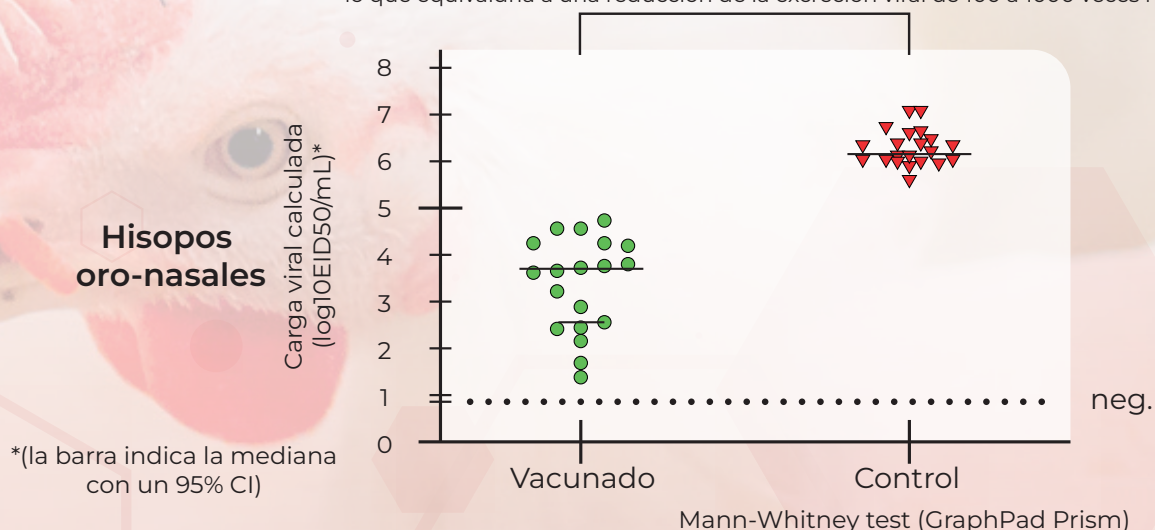
Título Extrapolado Log10 EID 50/mL				
Órgano	Tráquea		Riñón	
Grupo	Vacunado-Desafiado	No Vacunado-Desafiado	Vacunado-Desafiado	No Vacunado-Desafiado
Media	2.0	6.5	2.0	3.3
DS	±0.7	±0.5	±0.9	±1.2
Mediana	1.9	6.5	1.9	3.0
Min	1.2	5.8	0.9	1.7
Max	4.0	7.4	4.4	6.4
Positividad	100%	100%	80%	100%

De las muestras de hisopos coanales y cloacales se obtuvo una excreción viral del virus de desafío uniforme y muy intensa en los controles desafiados por ambas vías.

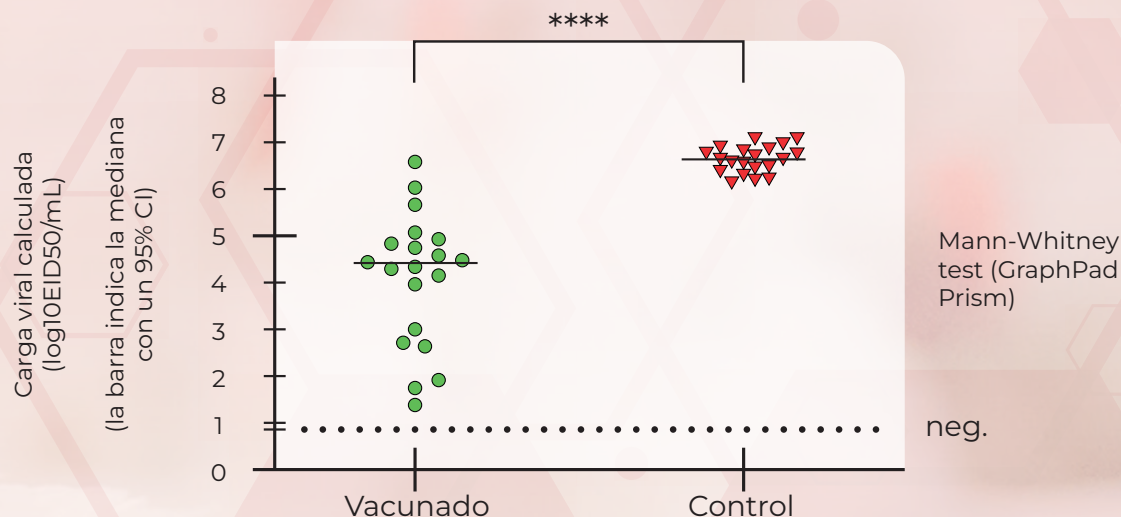
En el grupo vacunado, el contenido viral de las muestras de hisopado se redujo significativamente en 2-3 unidades log10 cada una.

lo que equivaldría a una reducción de la excreción viral de 100 a 1000 veces menos.

Hisopos oro-nasales



Hisopos cloacales



Título Extrapolado Log10 EID 50/mL

Órgano	Hisopos coanales		Hisopos cloacales	
Grupo	Vacunado-Desafiado	No Vacunado-Desafiado	Vacunado-Desafiado	No Vacunado-Desafiado
Media	3.4	6.2	4.0	6.7
SD	±1.0	±0.3	±1.4	±0.3
Mediana	3.7	6.2	4.4	6.7
Min	1.5	5.5	1.3	6.2
Max	4.6	6.8	6.5	7.1
Positividad	100%	100%	100%	100%

5. Reducción de eliminación viral (shedding)

- Las aves control eliminaron grandes cantidades de virus por ambas rutas.
- En aves no vacunadas, todos los tejidos y hisopos mostraron **altas cargas virales uniformes**.
- En aves vacunadas, órganos como tráquea y riñón tuvieron **cargas muy bajas** o cercanas al límite de detección.

Conclusiones

La duración de la inmunidad proporcionada por la aplicación combinada de las vacunas **IBird** y **Cevac® Bron 120 L** fue evaluada en pollas comerciales de postura. Las vacunas se administraron en una **única aplicación al día de edad**, sin refuerzos posteriores.

Los resultados muestran que:

- El **grupo control infectado** presentó afectación severa, lo cual **valida el sistema de desafío**.
- En el **grupo vacunado**:
 - Los **signos clínicos** y las **lesiones histológicas** fueron significativamente reducidos;
 - La **actividad ciliar de la tráquea** se conservó tras la infección de desafío (tasa de protección según **Farmacopea Europea: 90%**).
 - La **carga viral** se redujo significativamente en los **hisopos coanales y cloacales**, así como en las **muestras de órganos de tráquea y riñón**.



Juntos, más allá de la Salud Animal

