

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EVALUACIÓN DE LA POTENCIA DE VACUNAS
COMERCIALES CONTRA LA ENFERMEDAD DE
GUMBORO EN INOCULACIÓN EN EMBRIÓN DE POLLO**

ALICIA DEL CARMEN ZAMBRANO VALENZUELA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, MAYO DE 2017

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EVALUACIÓN DE LA POTENCIA DE VACUNAS COMERCIALES
CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO EN INOCULACIÓN EN
EMBRIÓN DE POLLO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ALICIA DEL CARMEN ZAMBRANO VALENZUELA

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2017

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO: M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIA: Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I: M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II: Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III: Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV: Br. Brenda Lissette Chávez López
VOCAL V: Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

M.Sc. LUCERO SERRANO ARRIAZA DE GAITÁN

M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

EVALUACIÓN DE LA POTENCIA DE VACUNAS COMERCIALES CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO EN INOCULACIÓN EN EMBRIÓN DE POLLO

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

DIOS:

Agradezco por ser un pilar sólido fuente de fortaleza, vitalidad y tenacidad para superar los obstáculos, por brindarme una familia excepcional; además de poner a muchos ángeles en mí camino, asimismo por su infinita bondad y amor.

LOS ABUELITOS:

Agradezco por ser una fuente de sabiduría, guía, protección y apoyo en mi vida.

MIS PADRES:

Los seres maravillosos que son pilares fundamentales en mi vida. Por haberme apoyado en todo momento acompañándome en el recorrido de este camino, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor incondicional ¡Los amo!

En reconocimiento a todo el sacrificio que han hecho para que yo pudiera estudiar, les dedico con mucho amor todo mi esfuerzo, se merecen eso y mucho más.

MIS HERMANOS:

Jorge y Eder siempre me han brindado su apoyo incondicional, cariño, sabiduría, paciencia y amistad, además hemos compartido el anhelo de ver la culminación de esta carrera.

MIS ABUELITAS:

Mamú y Mama Tere (Q.E.P.D.), excelentes ejemplos de mujeres, trabajadoras, dedicadas, entregadas a su familia, amorosas, luchadoras y muy alegres. Gracias por sembraron en mí buenos valores, cariño, responsabilidad, alegría y por supuesto que la familia debe de estar unida en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

**UNIVERSIDAD DE SAN
SAN CARLOS DE GUATEMALA:**

Por abrirme sus puertas para mí formación académica y convertirse en mi segundo hogar. Me siento muy orgullosa de ser Sancarlista.

**FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA:**

Por haberme permitido adquirir los conocimientos de la carrera que me encantan y que amo, por las vivencias buenas y difíciles que obtuve a través del paso de las aulas.

**LABORATORIO DE REFERENCIA
REGIONAL DE SANIDAD
ANIMAL (LARRSA):**

Por darme la oportunidad y el apoyo para realizar este trabajo de investigación.

MIS MAESTROS:

Por impulsar el desarrollo de mi formación profesional y apoyarme en su momento. Aquellos que marcaron y ayudaron cada etapa de mi camino universitario muchas gracias por todo.

MIS ASESORES:

Dra. Serrano, por su gran apoyo, paciencia, tiempo compartido y motivación para la culminación de mis estudios profesionales y por su asesoría fundamental en la elaboración de esta tesis; Dr. Méndez, por su apoyo y colaboración en este trabajo.

Ha sido un privilegio el contar con su guía y ayuda.

MIS ABUELITOS:

A Mamú y Mama Tere por su gran ejemplo y amor que he recibido de ustedes. ¡Las quiero mucho!

A abuelito Reginaldo y Papa Moncho que están en el cielo, siempre cuidarme y guiarme desde allá arriba, gracias por sus legados.

MIS TÍOS Y TÍAS:

Por sus ánimos, atenciones, sus consejos, su paciencia y sus muestras de cariño y amor durante todo este tiempo, muchas gracias. Son parte importante en mi vida.

MIS PRIMOS Y PRIMAS:

Por estar pendientes siempre de mí, por siempre apoyarme y alentarme a que continuara echándole ganas. Los quiero mucho, Ustedes son como mis hermanos y hermanas.

MIS SOBRINOS Y SOBRINAS:

Porque son una parte de mi alegría en mi vida, con su inocencia y ocurrencias traen mucha felicidad, nuevas esperanzas y una motivación más fuerte por seguir adelante cada día. Los quiero mucho mis chiquitines.

MIS AMIGOS QUERIDOS:

Porque fueron una fuente de apoyo en el transcurso de este camino. Gracias a los que les he robado horas de compañía, por compartir buenos y no tan buenos momentos a lo largo de este tiempo. Ustedes son la familia que escogí.

Nombrar a todos sería muy extenso y podría cometer algún olvido injusto, es por ello que estas palabras van dirigidas con mucho cariño para cada uno de ustedes, ¡Gracias amigos por estar ahí siempre!

MIS HERMANOS:

Jorge y Eder gracias por ser mi compañía, mi apoyo y mi fuerza para seguir adelante, sin ustedes no sería lo mismo. ¡Los amo!

MIS PADRES:

Por todo el apoyo, confianza, paciencia y amor que he recibido durante toda mi vida, logrando así un sueño y una meta más. Ustedes son el pilar fundamental de todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, gracias por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través de todo este tiempo. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ustedes. Soy la persona más dichosa por tenerlos como padres

Papi: gracias por darme el ejemplo de responsabilidad, del trabajo arduo, creatividad, de la independencia, por toda la ayuda que me has brindado siempre que lo he necesitado, el amor incondicional que he recibido.

Mami: sin duda sos mi ejemplo de perseverancia, constancia, tenacidad y de lucha interminable ante la vida. Gracias por enseñarme a valerme por mi misma, apoyarme siempre en la búsqueda de mis metas, tu amor incondicional y tu comprensión te estoy eternamente agradecida por ello.

¡Muchas gracias por ser Mi Rayo de Sol!

Cada logro y cada triunfo son también suyos.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	HIPÓTESIS.....	3
III.	OBJETIVOS.....	4
	3.1 Objetivo General.....	4
	3.2 Objetivos Específicos.....	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
	4.1 Enfermedad de Gumboro.....	5
	4.1.1 Etiología.....	6
	4.1.2 Epidemiología.....	7
	4.1.3 Trasmisión.....	8
	4.1.4 Patogenia.....	8
	4.1.5 Signos clínicos.....	10
	4.1.5.1 Infección aguda clínica.....	10
	4.1.5.2 Infección subclínica.....	11
	4.1.6 Lesiones.....	11
	4.1.7 Diagnóstico.....	12
	4.1.7.1 Diagnóstico clínico.....	12
	4.1.7.2 Diagnóstico en laboratorio.....	12
	4.1.8 Tratamiento.....	13
	4.1.9 Control y prevención.....	13
	4.2 Biológicos.....	17
	4.2.1 Productos para inmunización activa.....	18
	4.2.2 Productos para inmunización pasiva.....	18
	4.2.3 Agentes utilizados con fines diagnósticos.....	19
	4.2.4 Otros productos.....	19
	4.2.4.1 Convencionales.....	20
	4.2.4.2 Nueva generación.....	20
	4.3 Control de calidad.....	21

V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
5.1	Materiales.....	27
5.1.1	Recursos biológicos.....	27
5.1.2	Recursos humanos.....	27
5.1.3	Recursos de campo.....	27
5.1.4	Recursos de laboratorio.....	27
5.1.5	Recursos físicos.....	28
5.1.6	Centros de referencia.....	28
5.2	Metodología.....	28
5.2.1	Diseño de estudio.....	28
5.2.2	Descripción del área.....	29
5.2.3	Ubicación.....	29
5.2.4	Determinación de la muestra.....	29
5.2.5	Metodología de campo.....	29
5.2.6	Análisis estadístico.....	30
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
6.1	Análisis estadístico.....	32
VII.	CONCLUSIONES.....	34
VIII.	RECOMENDACIONES.....	35
IX.	RESUMEN.....	36
	SUMMARY.....	37
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
XI.	ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1

Títulos obtenidos de las vacunas comerciales de la enfermedad de Gumboro analizadas en Guatemala 2016.....32

Cuadro 2

Comparación de los títulos obtenidos de las vacunas comerciales de la enfermedad de Gumboro analizadas en Guatemala vs títulos de referencia de casas comerciales 2016.....32

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Gumboro, como otras enfermedades de las aves, constituye un riesgo en la avicultura nacional debido a la mortalidad directa que puede llegar a alcanzar niveles de 40% y la susceptibilidad incrementada a otras enfermedades, es por ello que se deben de incluir las medidas preventivas adecuadas que eviten la enfermedad. (Jackwood, 2012; De Wit y Baxendale, 2015)

La utilización de la vacunación contra la enfermedad de Gumboro, en el plan profiláctico es necesaria; debido a que la distribución de la enfermedad de gumboro es mundial y Guatemala no escapa de la misma. (Caisé, 2012; Organización Mundial de la Salud [OMS], 2012)

La información de la prevalencia de la enfermedad en Guatemala es muy escasa, existen registros que en el parcelamiento La Blanca del municipio de Ocosingo en departamento de San Marcos hay una prevalencia de 46.70% de esta afección. (Morán, 1991)

Se debe de tener en cuenta todos los factores que influyen a la hora de la elaborar un programa de vacunación, ya que, si algunas de las normas fallan, no se podrá cumplir los objetivos de este. Además, hay que prestar atención a las normas rigurosas de elaboración de las vacunas, para garantizar la calidad la inocuidad y la seguridad de las vacunas desde las etapas de desarrollo hasta su correcta aplicación. (Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2008a; Suárez, 2011)

En nuestro país no se realiza una evaluación sistemática y constante de la calidad de los biológicos, principalmente la esterilidad, así como su capacidad

inmunogénica, por lo que no se puede estar completamente seguro de que la calidad del producto se mantenga constante hasta llegar a las manos del productor y que estos reúnan las normas de calidad. (Lobo, 2007; OMS, 2012)

A la fecha no existen estudios que verifiquen que el grado de titulación de la que indica la etiqueta del producto concuerde realmente con el grado ofrecido por la casa productora en sí.

Es por eso la importancia de este estudio, ya que se pretenden analizar muestras de la vacuna de Gumboro que se expenden a nivel nacional y determinar la calidad de las mismas.

II. HIPÓTESIS

El título de las vacunas evaluadas se encuentran dentro de los parámetros establecidos ($1 \times 10^{2.0}$ DIE₅₀¹/ml).

¹ Dosis Infecciosa en Embrión 50.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Determinar la potencia de las vacunas comerciales contra la enfermedad de Gumboro.

3.2 Objetivos Específicos

- Evaluar las vacunas comerciales contra la enfermedad de Gumboro mediante la titulación obtenida a través de inoculación en embrión de pollo.
- Determinar la cantidad de antígeno promedio presente en las vacunas contra la enfermedad de Gumboro.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Enfermedad de Gumboro

Esta enfermedad es conocida como Bursitis Infecciosa (BI), Enfermedad Infecciosa de la Bursa de Fabricio o Enfermedad de Gumboro. (OIE, 2008a; Matzer, 2010)

La enfermedad es reportada en pollos jóvenes domésticos en todo el mundo. Se caracteriza por la inmunosupresión y la mortalidad generalmente en la edad de 3 a 6 semanas de vida. Puede presentarse como una enfermedad clínica o subclínica, en donde la inmunosupresión e infecciones secundarias relacionadas se observan normalmente. La gravedad de la inmunosupresión depende de la virulencia del virus que ha ingresado y la edad del huésped. (Matzer, 2010; Jackwood, 2012)

Es importante económicamente para la industria avícola mundial debido a la mortalidad que puede llegar a niveles de 40%, la susceptibilidad incrementada a otras enfermedades, debido a la deficiencia del sistema inmune del ave y la interferencia con la vacunación efectiva. Esta enfermedad es ampliamente distribuida a nivel mundial y su incidencia es alta, sobre todo en las aves que están expuestas al virus durante las fases tempranas de vida. (Jackwood, 2012; De Wit y Baxendale, 2015)

Los efectos negativos de la Enfermedad de Gumboro pueden ser controlados eficazmente por medio de la vacunación y la instauración de medidas sólidas de bioseguridad. (De Wit y Baxendale, 2015)

La estrategia detrás del uso de vacunas es la de alcanzar una reducción efectiva en la diseminación de la enfermedad; previniendo la contaminación cruzada en cualquier parte de la cadena de producción. (Lobo, 2007)

4.1.1 Etiología

Es causada por un virus del género *Avibirnavirus*, miembro de la familia *Birnaviridae*. El virus es de RNA de doble cadena que tiene un genoma bisegmentado en A y B. El segmento A contiene la región codificante para la cápside externa, gen VP2, el cual codifica la cápside externa del virus, es el responsable de su antigenicidad y se ha identificado en este gen una región de alta mutagenicidad. Para la cápside interna es el gen VP3, para la proteasa gen VP4 y el gen VP5 que todavía no tiene una función bien clara, aunque se cree que tiene cierta importancia en la patogenia de la enfermedad. El segmento B contiene el gen VP1 que expresa la RNA polimerasa viral. (Jackwood, 2012; Pagès-Mant, 2013; Stewart-Brow y Grive, 2015)

Este virus es muy resistente tanto a altas temperaturas como a pH entre 2 y 12. Resiste a numerosos desinfectantes; la cloramina y los aldehídos son los más efectivos. (Biarnés, 2014; Stewart-Brow y Grive, 2015)

Se han identificado serotipos (1 y 2) y subtipos del virus que difieren parcialmente en antigenicidad y en virulencia. Solo los serotipos 1 causan enfermedad en pollos, pero se ha aislado en patos, pavos, gallina de guinea y avestruces; dentro de este serotipo, la variación antigénica puede hallarse entre las cepas. Existen dos grandes tipos de cepas; las de tipo Estándar o Clásicas fueron las primeras en surgir a mediados de los años 50, cuando se aisló la enfermedad inicialmente. En la actualidad se mencionan que tiene distintos grados de patogenicidad: baja, intermedia, alta y muy virulentas; al otro subtipo de cepas se le conoce como Variantes Antigénicas, llamadas así debido a que hay un

cambio en las características inmunogénicas del virus, fueron descubiertas en los años 80 y son altamente inmunodepresoras, lo que ocasionó que las aves previamente inmunizadas contra las cepas Clásicas se vieran susceptibles a ser infectadas por estas Variantes Antigénicas. (Biarnés, 2014; Banda, 2015)

Los virus del serotipo 2, aislados de pavos y pollos, no son patógenos. No existe inmunidad cruzada entre los dos serotipos; al menos seis subtipos antigénicos del virus de Gumboro se han identificado. (OIE, 2008a; Matzer, 2010; Biarnés, 2014)

4.1.2 Epidemiología

La enfermedad fue reportada por primera vez por Cosgrove en 1962 y referida como “nefrosis aviar” debido al daño severo observado en los riñones de las aves afectadas. En 1970, Winterfield y Hitchner reconocieron el agente causal de la enfermedad de la bolsa de Fabricio. La enfermedad fue referida como “Enfermedad de Gumboro” debido a que fue observada por primera vez en granjas localizadas en la región de Gumboro, Delaware (Estados Unidos); actualmente se encuentra distribuida por todo el mundo. (Lukert y Mutalib, 1994)

La especie *Gallus gallus domesticus* es la única que desarrolla síntomas y lesiones específicas cuando es expuesta al virus de Bursitis Infecciosa. Las aves de las líneas ligeras son mucho más sensibles que las aves de las líneas de engorde. El virus de Bursitis Infecciosa es altamente contagioso y difunde con rapidez. (Biarnés, 2014)

La forma en la que la enfermedad se presenta depende fundamentalmente de la edad, estirpe de las aves, cepa viral y de la inmunidad activa o pasiva que posean los animales; por ejemplo, los pollos jóvenes con anticuerpos maternos son inmunes a la infección mientras las cantidades de anticuerpos sean altas, pero

se vuelven susceptibles cuando los títulos disminuyen. (Jordan y Pattison, 1998; Jackwood, 2012)

4.1.3 Trasmisión

La transmisión es horizontal de las aves infectadas directamente o indirectamente a través de fómites, alimento, el agua y por materia fecal proveniente de aves infectadas activamente e instalaciones contaminadas. El escarabajo del estiércol (*Alphitobius diaperet atrinus*), lombrices, ácaros de las camas pueden albergar al virus durante semanas y transmitirlo, así como vectores mecánicos como las aves silvestres, los seres humanos también participan en la diseminación del virus. (OIE, 2008b; Biarnés, 2014)

No hay evidencia de transmisión vertical a través del huevo ni de que las aves recuperadas queden como portadoras asintomáticas de la enfermedad. El virus es muy estable, lo cual explica su persistencia y supervivencia durante tiempos prolongados en los galpones. (Lukert y Mutalib, 1994; Jordan y Pattison, 1998; Pagès-Mant, 2013)

4.1.4 Patogenia

Como se mencionó anteriormente el pollo es el único hospedador conocido que desarrolla la enfermedad clínicamente. La principal fuente de infección es la oral de forma directa o indirectamente, pero también pueden ser importantes la vía conjuntival y la respiratoria. Después de la infección el virus se excreta en las heces durante un período de 10 a 14 días; es muy estable, por lo que mantiene alta su capacidad de infección en el ambiente durante muchos meses. El periodo de incubación del virus es de 2 a 3 días. (Jordan y Pattison, 1998; Biarnés, 2014; De Wit y Baxendale, 2015)

La enfermedad de Gumboro afecta a los órganos linfoides (bolsa de Fabricio, timo, bazo y tonsilas cecales), y como consecuencia de ello queda comprometida la respuesta inmunitaria. Por un lado, se ven perjudicados los linfocitos B y la producción de anticuerpos, y por el otro lado los linfocitos T, lo que afecta a la inmunidad mediada por células (macrófagos). Si bien el órgano diana es la bolsa de Fabricio, también se ven dañados otros órganos linfoides como el timo. (Bruguere-Picoux, 1979; Banda, 2015)

Después de la infección oral, el virus está presente en los macrófagos y células linfocitarias del yeyuno y ciegos. Tanto el intestino delgado como el grueso, que son los primeros sitios de replicación del virus. El virus llega al hígado a través del sistema venoso portal. Las células de Kupffer en el hígado atrapan y fagocitan una cantidad considerable del virus. El virus que llega al sistema circulatorio principal se moviliza a otros órganos incluyendo la Bolsa de Fabricio. Los linfocitos B inmaduros en la Bolsa de Fabricio son las células diana del virus, 16 horas post infección ocurre una segunda viremia masiva. La infección resulta en una replicación secundaria viral en otros órganos linfoides (bazo, la glándula de Harder y el timo). El desarrollo fisiológico propio de las aves determina que la infección del virus de Gumboro se exprese de diferente forma en función del momento en el que infecta a los animales. (Jordan y Pattison, 1998; Pagès-Mant, 2013; Biarnés, 2014; De Wit y Baxendale, 2015)

A partir de las tres semanas de edad, cuando los órganos linfoides llegaron a su madurez, se presenta la enfermedad clínica y muerte, debido principalmente al efecto necrotizante que ocurre dentro de 24 a 72 horas post-infección. El desarrollo de la infección presenta una reacción tisular, celular e inmunitaria que se expresa en los síntomas clásicos de la enfermedad y las lesiones patognomónicas de la misma, con una mortalidad que difiere, debido a la receptibilidad de los animales y de la patogenicidad del virus. Los signos clínicos no se manifiestan en los pollos que se han infectado antes de dos semanas de edad,

ya que la bolsa de Fabricio es todavía inmadura, pero la patología de la Bolsa puede ser evidente, provocan una alteración del proceso inmunológico general y consecuentemente, una inmunodepresión a los animales infectados. El organismo del animal no tiene la capacidad de estimular a los linfocitos T o B para combatir infecciones posteriores. (Jackwood, 2012; Biarnés, 2014; De Wit y Baxendale, 2015)

La multiplicación del virus es similar para todos los subtipos del virus, con excepción de las cepas más virulentas, las cuales tienen un aumento de replicación viral en cada paso (se realiza una primera replicación a nivel del duodeno, yeyuno y ciegos, posteriormente ocurre una segunda en los órganos linfáticos), la cual resulta en un incremento en la severidad de los signos clínicos. (OIE, 2008b; De Wit y Baxendale, 2015; Stewart-Brow y Grive, 2015)

4.1.5 Signos clínicos

La severidad de los signos clínicos y las lesiones dependen de la virulencia del virus y del tipo de ave (ponedoras o engorde) y del status inmune del ave afectada (anticuerpos maternos).

Dos cuadros clínicos se distinguen:

4.1.5.1 Infección aguda clínica

En su forma aguda o clásica, que ocurre en aves de 3 a 6 semanas de edad, se observa depresión, postración, diarrea blanca acuosa, hipertermia, plumas de la cloaca sucia, cloaca picada, anorexia, deshidratación, disnea, plumas erizadas, letargia, incoordinación, asfixia y muerte súbita. (OIE, 2008a; Biarnés, 2014)

La mortalidad y la morbilidad se empiezan a manifestar a los 3 días post-infección cuando alcanza su pico y luego baja de 5-7 días. La morbilidad puede variar de 10 a 100%; mientras que en la mortalidad puede ser baja o tan alta en un rango que va de 10-90%. (Jordan y Pattison, 1998; Biarnés, 2014; De Wit y Baxendale, 2015)

4.1.5.2 Infección subclínica

Generalmente se da en aves menores de 3 semanas de edad que tienen suficiente inmunidad maternal en el momento de la infección que previene la manifestación de la enfermedad clínica pero no la replicación del virus en la Bolsa de Fabricio, se presenta retraso del crecimiento asociado a otras enfermedades. No se observa un pico en la mortalidad como se evidencia en la infección clínica. Debido a la inmunosupresión puede haber una mala respuesta a vacunaciones posteriores. Las infecciones secundarias (principalmente por *E. coli*) resultan en un continuo aumento en la tasa estándar de mortalidad diaria y una mala conversión alimenticia. (Matzer, 2010; Jackwood, 2012; De Wit y Baxendale, 2015)

4.1.6 Lesiones

Los cadáveres de las aves presentan deshidratación (lo que causa lesiones renales); es frecuente encontrar hemorragias en músculos de muslos y pectorales, en ocasiones en las mucosas del proventrículo, así como el incremento de mucus en el intestino y nefritis. El hígado puede estar inflamado y mostrar infartos periféricos; en algunos casos puede haber esplenomegalia. Inicialmente la bursa se encuentra aumentada de tamaño debido al edema e hiperemia con estriaciones longitudinales, también se puede presentar hemorragias petequiales o extensas, que evolucionan a una atrofia del tejido linfoide, se forman cúmulos caseosos dentro de la luz del tejido epitelial apelmazado. (Jordan y Pattison, 1998; Pagès-Mant, 2013)

La inflamación y la apariencia blanquizca de los riñones, así como la dilatación de los túbulos relacionada con uratos y restos celulares se encuentran en algunos brotes, pero no parecen ser un hallazgo consistente. (Biarnés, 2014)

Los cambios histológicos en la bolsa reflejan respuesta inflamatoria inicial con hiperemia, edema e infiltración de heterófilos acompañados por necrosis de células linfocitarias B. (Jordan y Pattison, 1998; Jackwood, 2012; Banda, 2015)

4.1.7 Diagnóstico

El diagnóstico puede ser clínico o a nivel de laboratorio:

4.1.7.1 Diagnóstico clínico

Tanto la historia como los signos y las lesiones macroscópicas y la mortalidad sirven para el reconocimiento de la enfermedad aguda. En el caso de la enfermedad subclínica, puede ser necesario un diagnóstico diferencial que incluya coccidiosis, enfermedad de Newcastle, síndrome hemorrágico, otras hemorragias, avitaminosis A y síndrome de hígado y riñón graso. (Biarnés, 2014; De Wit y Baxendale, 2015)

4.1.7.2 Diagnóstico en laboratorio

Las técnicas a nivel del laboratorio disponibles para el diagnóstico son:

- Valoración de las lesiones típicas macroscópicas (necropsia) y microscópicas (histología) en los tejidos linfocitarios, especialmente la bolsa de Fabricio.

- Detección de antígenos virales en bolsa de Fabricio (inmunohistoquímica: test de inmunofluorescencia y test de inmunoperoxidasa).
- Aislamiento e identificación del virus de Gumboro, a partir de muestras de la bolsa de Fabricio. Se realiza en embrión de pollo libre de patógenos específicos (SPF), cultivo celular o pollitos SPF.
- Técnicas moleculares como la Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) para la detección e identificación y la secuenciación para la caracterización del virus.
- Medición de los anticuerpos circulantes mediante técnicas serológicas. La técnica de referencia es la seroneutralización (SN) aunque, por su complejidad, no se realiza habitualmente. La utilización de la prueba de difusión en agar gel contra un antisuero positivo conocido, es otro método empleado. La técnica de ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) es sin duda la más utilizada y existe una gran variedad de kits comerciales. Estas técnicas nos servirán tanto para diagnosticar un brote de la enfermedad como para una monitorización de las aves.

(Jordan y Pattison, 1998; Biarnés, 2014)

4.1.8 Tratamiento

No existe tratamiento para esta enfermedad. (Bruguere-Picoux, 1979)

4.1.9 Control y prevención

Los programas de vacunación, junto con la limpieza y desinfección de la granja y estrictas medidas de bioseguridad, son la base del control de la enfermedad. (Matzer, 2010; Biarnés, 2014)

La vacunación contra la enfermedad de Gumboro es el principal método de control de la enfermedad. La vacunación se realiza por dos objetivos importantes:

los pollos reproductores, que transmiten la inmunidad pasiva a su progenie a través del saco vitelino (yema), y los pollos de engorde, con inmunidad activa. Para establecer un control efectivo, se requiere de un programa completo basado en los siguientes factores:

- Disminución de la presión infectante del virus de campo, mediante programas de limpieza y desinfección y un adecuado intervalo entre lotes (periodos de reposo).
- Implementación de las medidas de Bioseguridad para evitar o reducir el grado de exposición a cepas de campo muy virulentas o variantes.
- Uso de programas inmunoproliféricos en reproductoras con vacunas vivas e inactivadas para lograr uniformidad en los títulos de anticuerpos maternos a ser traspasados a la progenie.
- Uso de programas inmunoproliféricos en pollitos de engorde, con el fin de ocupar y colonizar el tejido linfoide con la población vacunal.
- Planes profilácticos donde se analiza la utilización de vacunas vivas o inactivadas.
- Prevención de otras enfermedades inmunosupresoras (anemia infecciosa, enfermedad de Marek, reovirus, adenovirus, micotoxicosis, deficiencias nutricionales, estrés, etc.).
- Seguimientos serológicos para evaluar las respuestas de vacunación y el grado de exposición al virus campo.
- Aislamiento e identificación de nuevos virus y su uso subsiguiente en las vacunas vivas e inactivadas en las áreas endémicas.

(Bruguere-Picoux, 1979; Pagès-Mant, 2013)

Las vacunas contra la Enfermedad de Gumboro son preparadas a partir de tejidos o fluidos obtenidos de huevos embrionados de gallina SPF (Specific Pathogen Free por sus siglas en inglés) o cultivo celular. (Mercado Común del Sur [Mercosur], 1997; OIE, 2008c)

Las vacunas vivas, ya sean de subtipos clásicos o Delaware, se han clasificado por su patogenicidad en tres tipos:

- Vacunas avirulentas o suaves: poco usadas, producen mínimas o no detectables alteraciones en la bursa o bolsa de Fabricio, las cuales son limitadas. Si hay niveles bajos de inmunidad maternal las neutralizan, no causan lesiones en la bolsa de Fabricio.
- Vacunas intermedias: dan lugar a una atrofia detectable de la bolsa e inmunodepresión de los animales. Rompen niveles intermedios de inmunidad maternal.
- Vacunas intermedias plus, virulentas o vacunas “calientes”: producen títulos altos; pero pueden dar lugar a formas clínicas de la enfermedad si se usan como primovacunación, pueden causar lesiones en la bolsa, capaces de atravesar niveles más altos de inmunidad maternal que las intermedias es mejor si es adicionalmente implementada.

(OIE, 2008c; De Wit y Baxendale, 2015)

Las cepas llamadas Intermedias son actualmente las más populares y/o utilizadas. Estas pueden ser usadas en pollos con inmunidad maternal alta, ya que estas cepas son capaces de superar altos niveles de inmunidad maternal. Sin embargo, estas cepas varían en cuanto a antigenicidad, virulencia y por consiguiente, provocan en mayor o menor grado inmunodepresión por inducir atrofia en la bolsa de Fabricio que es donde se replica el virus, así mismo la producción de anticuerpos depende de la antigenicidad de la vacuna y de la capacidad de respuesta del sistema inmune. (Toscano et al., 2002)

Al diseñar programas de vacunación se deben de tomar en cuenta varios factores:

- Nivel de anticuerpos maternos: Es importante conocerlo para determinar el momento de susceptibilidad y por tanto el éxito del programa. Los pollitos con altos niveles de anticuerpos maternos van a ser refractarios a cualquier vacuna viva, excepto a las virulentas; por lo que no tendrán respuesta a las vacunas medias o suaves.
- Si se conoce el nivel de anticuerpos al día de edad y al poder predecir el ritmo de pérdida de anticuerpos maternos, se podrá determinar el momento óptimo de vacunación.
- El tipo de virus presente en el campo y la severidad y magnitud del desafío con el virus del campo. Ya que existen zonas con altos niveles de contaminación vírica, o bien virus de alta virulencia.
- Las prácticas de manejo y trabajo. Por lo que se hace necesario establecer un estado inmune mediante un método conveniente para medir el nivel de anticuerpos contra Gumboro. Uno de estos métodos podría ser mediante la técnica de ELISA.
- El estado de vacunación de los grupos de progenitores que es el problema de la gran variabilidad de títulos en los pollitos de un mismo lote.
- Tipo de ave, uniformidad del lote, etc.

(Pagès-Mant, 2013; Biarnés, 2014)

Actualmente existen las vacunas de nueva generación, como las vectoriales y el complejo inmune vacunal. Su aplicación suele ser en la sala de incubación bien in ovo, o en el pollito. (Biarnés, 2014)

Otro tipo de vacunas disponibles son las inactivadas emulsionadas en aceite; estas estimulan una respuesta inmunitaria duradera y producen, un nivel uniforme de inmunidad en las aves reproductoras que transmitirán a la descendencia. (Jackwood, 2012)

No existe un programa de vacunación universal. Hay una gran variedad de posibilidades: vacunación in ovo, en espray, inyectada o al agua; vacunas vivas o inactivadas; vacunación con cepas suaves, intermedias, intermedias plus, calientes o variantes (donde sea posible); una, dos o tres vacunaciones. La elección del programa vacunal adecuado para cada región y para las condiciones particulares de manejo de cada explotación es misión del veterinario a cargo de los programas preventivos. (Lukert y Mutalib, 1994; Jackwood, 2012)

Generalmente, los virus de campo son más patógenos e invasivos que la mayoría de los virus vacunales y pueden causar infecciones en presencia de anticuerpos maternos antes de que el lote pueda estar plenamente inmunizada. (Jackwood, 2012)

Por esta razón, la concentración del virus en granja debe disminuirse tanto como sea posible para reducir el grado de exposición y permitir que el sistema inmunitario de las aves pueda responder, primero a la vacunación y segundo, al desafío de campo. La formalina y la cloramina han demostrado su eficacia en la destrucción del virus. La limpieza y desinfección de los galpones, la eliminación de vectores tales como el escarabajo del estiércol, así como permitir suficiente tiempo de reposo entre lotes, ayudará a disminuir la cantidad de desafío presente en la granja y dará la oportunidad de actuar eficazmente a las vacunas. (Jordan y Pattison, 1998; Banda, 2015)

4.2 Biológicos

Los productos biológicos, son sustancias o medicamentos que se pueden extraer de fuentes naturales como tejidos o fluidos (sangre), órganos de humanos, animales y plantas, del crecimiento de agentes microbianos y virus, aplicable a la prevención o tratamiento de enfermedades. (Rossi, Pedrique y Gutiérrez, 2008; OMS, 2012)

Los productos biológicos tienen las siguientes características:

- Son sintetizados por organismos vivos.
- Son moléculas grandes y complejas.
- Son compuestos de estructura muy lábil.
- Presentan complejos procesos de manufacturación.
- Existe dificultad en lograr la estabilización del preparado.
- Están dirigidos a sitios cada vez más específicos del proceso que se intenta modular.

(Baraibar, 2006; Cuñetti, 2015)

Clasificación de los productos biológicos:

4.2.1 Productos para inmunización activa

- Vacunas bacterianas.
- Vacunas elaboradas a partir de Rickettsias.
- Vacunas virales.
- Toxoides.

4.2.2 Productos para inmunización pasiva

- Antitoxinas.
- Antivenenos.
- Anticuerpos monoclonales y policlonales.
- Globulinas inmunes.

4.2.3 Agentes utilizados con fines diagnósticos

- Toxinas.
- Tuberculina.

4.2.4 Otros productos

Se encuentran la sangre y derivados sanguíneos, alérgenos, antígenos, hormonas, citoquinas, enzimas y productos de fermentación (incluyendo los elaborados mediante tecnología recombinante).

(Suárez et al., 2011; Cuñetti, 2015)

En esta investigación se evaluó la potencia de productos de inmunización activa. Estos al ser administrados al individuo inducen una respuesta inmune específica. (Rossi et al., 2008; Caisé, 2012)

Una vacuna es un microorganismo completo (vivo o muerto) o algunas de sus proteínas, capaces de inducir una respuesta inmune protectora y más o menos duradera, frente al mismo microorganismo virulento, sin producir efectos secundarios. Mediante la vacunación se consigue una respuesta adquirida, tanto humoral como celular y el desarrollo de una memoria inmune. (OIE, 2008c; Gutiérrez, 2010; Cuñetti, 2015)

Un plan de vacunación es la forma más sostenible y utilizada para la prevención de enfermedades infectocontagiosas en medicina veterinaria. Una vacuna ideal es relativamente fácil de definir, pero pocas vacunas lo logran, incluso existen microorganismos para los cuales no hay vacunas. Se puede plantear que son muchos y diversos los retos que deben vencerse para lograr adecuadas vacunas. (Lobo, 2007; Suárez et al., 2011; Caisé, 2012)

La gran mayoría de las vacunas veterinarias actualmente en uso, frente a un gran número de enfermedades bacterianas y víricas, todavía pertenecen a las denominadas vacunas convencionales o tradicionales. Desde un punto de vista tecnológico, se podrían clasificar los diferentes tipos de vacunas actuales, en dos grandes grupos. (Lobo, 2007; Guriérrez, 2010; Caisé, 2012)

4.2.4.1 Convencionales

- Vivas atenuadas.
- Muertas o inactivadas.

4.2.4.2 Nueva generación

- Subunidades.
- Péptidos sintéticos.
- Recombinantes.
- De delección.
- Vacunas de ADN.

Tradicionalmente las estrategias de vacunación ayudaron a erradicar y controlar epidemias en medicina veterinaria, sin embargo, las vacunas utilizadas (vacunas inactivadas y atenuadas) tienen desventajas como los peligros de inactivación incompleta y reversión de la patogenicidad que producen un número de casos clínicos de las enfermedades después de las vacunaciones. (Baraibar, 2006; Lobo, 2007)

Los avances tecnológicos de las últimas décadas relacionado con la manipulación genética, las técnicas de ADN recombinante, los nuevos métodos de atenuación de patógenos, los avances en inmunología particularmente en lo referido a la presentación antigénica y procesamiento de antígenos ha permitido

dirigir las vacunas hacia la búsqueda de repuestas inmunes más específicas así como la utilización de nuevos adyuvantes, han servido de base fundamental para las llamadas vacunas de nueva generación. A diferencia de las vacunas tradicionales, las nuevas vacunas explotan el conocimiento íntimo de la estructura molecular de los patógenos, así como una mayor comprensión del mecanismo de inmunidad hacia ellos. Basado en esto se han desarrollado nuevos adyuvantes, vectores y formulaciones vacunales que permiten una mejor orientación de la respuesta lo que nos hace prever un futuro más alentador con relación a la posibilidad de obtener vacunas más eficientes. (Baraibar, 2006; Lobo, 2007; Suárez et al., 2011)

4.3 Control de calidad

Un importante reto en materia de seguridad de la inmunización es garantizar la calidad y la seguridad de las vacunas desde las etapas de desarrollo que incluyen los estudios clínicos, producción de la vacuna, control de calidad y distribución y uso de la vacuna. (Caisé, 2012; OMS, 2012)

El control de la calidad de las vacunas siempre se ha basado en tres componentes: el control de las materias primas, el control del proceso de producción y el control del producto final. En el caso de las vacunas tradicionales (vacunas vivas atenuadas e inactivadas) las cuales existe una amplia experiencia de producción y una larga historia de uso, se da importancia a los bioensayos para probar la potencia del producto final. (Dellepiane, Griffiths y Milstien, 2000; OIE, 2008c)

En los últimos años se ha producido un rápido desarrollo de las técnicas fisicoquímicas de análisis, caracterización y purificación de los antígenos. Se realizan pruebas para garantizar que cada lote de antígeno de vacuna tenga

propiedades análogas a los lotes cuya protección se ha demostrado en ensayos clínicos. (Dellepiane et al., 2000; OIE, 2008c; Suárez et al., 2011)

Desde hace algún tiempo se reconoce que la calidad de las vacunas sólo puede garantizarse mediante la aplicación de los siguientes principios:

- El uso de materias primas homogéneas y debidamente caracterizadas de origen definido y calidad aceptable (inclusive células y simientes de producción de virus o bacterias);
- Una validación apropiada del proceso de producción para demostrar la reproducibilidad de las condiciones de fabricación de los distintos lotes;
- La demostración de la uniformidad del material final de la producción con arreglo a lo dispuesto por el organismo nacional de reglamentación;
- La autorización independiente de los lotes por un organismo nacional de reglamentación como validación de la actuación del fabricante;
- La vigilancia, antes y después de la comercialización, del comportamiento del producto en la población destinataria a fin de demostrar su seguridad y eficacia.

(Dellepiane et al., 2000; Baraibar, 2006)

La caracterización de las materias primas se basa en gran medida en las pruebas, pero también en las auditorías de los proveedores, para garantizar que las cualidades se mantienen inalteradas (o con mínimas diferencias) entre lotes. Las pruebas también son indispensables para la determinación de ciertos productos intermedios (por ejemplo, antígenos purificados). No obstante, la validación del proceso y la demostración de que se obtiene un producto de calidad uniforme también forman parte fundamental de la función de garantía de la calidad. (Gutiérrez, 2010; Suárez et al., 2011)

Un proceso de producción debidamente validado permitirá obtener un producto uniforme. Eso significa que las características críticas de la vacuna generalmente medidas por las especificaciones del producto durante el proceso y en el producto final, están siempre presentes en las distintas series de producción. Las pruebas en el producto final se convierten en una demostración de la uniformidad de la producción, con el fin de garantizar que cada uno de los lotes posea las mismas características de un lote cuya inocuidad y eficacia han sido demostradas en los ensayos clínicos. (Dellepiane et al., 2000; Baraibar, 2006)

Para que una prueba de producto final confiera “validez” deberá cumplir los requisitos siguientes:

- Precisión: es la variación de los resultados de acuerdo a la desviación estándar o al coeficiente de variación.
- Exactitud: es el grado de correlación con el valor real.
- Sensibilidad: son las características de un método o de una técnica específica que indican su capacidad de medir o detectar pequeñas variaciones entre concentraciones de la sustancia de interés.
- Reproducibilidad: es la precisión del procedimiento realizado en diferentes ocasiones.
- Especificidad: es la característica de un método o técnica específicos que indica que dicho método o técnica no responden a ninguna otra propiedad más que la que se intenta medir.
- Robustez: es la habilidad de proporcionar resultados de exactitud y precisión bajo una variedad de condiciones.

(OMS, 2012)

Las pruebas seleccionadas para evaluar los requisitos mínimos de calidad del lote final de una vacuna están directamente relacionadas con su formulación y su proceso de producción. (OIE, 2008c; Gutiérrez, 2010; OMS, 2012)

Existen tres tipos de pruebas para realizar el control de calidad de las vacunas:

- Las pruebas de potencia: Están destinadas a evaluar el contenido del antígeno en el producto y se pueden efectuar por métodos in vivo e in vitro.
- Los métodos in vivo son los más utilizados para vacunas de virus inactivados, como la vacuna antirrábica, y consisten en la administración del producto a animales de experimentación para medir el grado de protección conferida por la vacuna. Se trata de pruebas de larga duración (entre uno y tres meses), y la potencia suele expresarse en Unidades Internacionales (UI).
- Los métodos in vitro, tales como los cultivos de tejidos, son los más utilizados para evaluar la potencia de vacunas de virus vivos atenuados (por ejemplo, la vacuna de Gumboro) y se basan en la cuantificación del efecto ocasionado por el virus vacunal sobre las células, llamado efecto citopático. La potencia de la vacuna se expresa como dosis infectante en embrión de pollo 50 (DIE₅₀), es decir, la dosis que infecta a 50% de Los embriones. Este tipo de pruebas de potencia in vitro tiene una duración de alrededor de 10 días.

(OIE, 2008c; OMS, 2012)

Para evaluar la potencia de la vacuna de la Enfermedad de Gumboro se han presentado diversos títulos a través del tiempo, antes del año 2,000 se consideraba un título aceptable de un rango de $10^{3.9}$ - $10^{5.0}$ DIE₅₀ (Dosis infectiva 50 embrión de pollo), posteriormente se acepta un título no menor de $10^{2.0}$ DIE₅₀ de virus por dosis de vacuna hasta el final del plazo de validez indicada por el productor. La vacuna puede ser titulada en embrión de pollo, así como cultivo celular de fibroblasto de embrión de gallina. (Mercosur, 1997; Sigmann y Neumann, 2000; Kraemer, 2004; OIE, 2008c)

- Las pruebas de seguridad: Son principalmente las de identidad, esterilidad, toxicidad y pirógenos.
- La prueba de identidad es una prueba de reacción antígeno-anticuerpo que tiene el propósito de corroborar que el contenido de la vacuna corresponda con lo declarado en la etiqueta del envase.
- La prueba de esterilidad tiene por objeto verificar la presencia o ausencia de contaminación bacteriana o fúngica (hongos) en el producto, mediante su inoculación en medios de cultivo adecuados. Si el producto está contaminado se desarrollará turbidez en los medios de cultivo. La duración de la prueba de esterilidad es de 14 días.
- Las pruebas de toxicidad (específica y general), llamadas también de inocuidad, consisten en la administración del producto a animales de experimentación, principalmente ratones y cobayos. Tienen por objeto evaluar durante siete días la aparición de cualquier reacción extraña en el grupo vacunado comparado con el aspecto y comportamiento del grupo de control (animales no vacunados). En el caso de la prueba de toxicidad específica, se determina el peso de los animales al inicio y al final del ensayo. Un producto pasa la prueba si no causa reacciones inespecíficas, disminución del peso al final del período de observación o ambos efectos.
- La prueba de pirógenos se lleva a cabo en conejos y permite determinar la presencia de sustancias pirogénicas, por lo general endotoxinas, mediante la aparición de fiebre en los animales de experimentación. Su duración es de aproximadamente dos días. Actualmente existe una prueba de pirógenos in vitro que está sustituyendo a la que se realiza en animales. Se trata de la prueba del lisado de amebocitos de *Limulus* (LAL), que permite determinar el contenido de endotoxinas en el producto y puede realizarse en unas horas. Esta prueba forma parte del control de calidad de vacunas recombinantes, fraccionadas y altamente purificadas.

Los métodos fisicoquímicos se utilizan para determinar:

- El contenido de adyuvante, hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio presente en las vacunas adsorbidas.
- El contenido de conservante en la vacuna (por ejemplo, el tiomersal, muy frecuente en las presentaciones (multidosis)).
- La determinación de humedad residual, en el caso de las vacunas liofilizadas se verifica el contenido de agua remanente.
- La determinación del aspecto, es otra prueba de fácil realización y que aporta información valiosa sobre la calidad del producto.

(OIE, 2008c; Gutiérrez, 2010; OMS, 2012)

Con la aparición de nuevas tecnologías de producción y la disponibilidad al mismo tiempo de nuevas vacunas, los fabricantes y los organismos de reglamentación afrontan nuevos problemas que complican aún más la tarea de garantizar la uniformidad de la inocuidad y la eficacia de los lotes de producción de vacunas. (Dellepiane et al., 2000; Suárez et al., 2011; Caisé, 2012)

Hoy en día se dispone de pruebas sumamente específicas y sensibles para evaluar las vacunas. Su uso como parte integral del proceso de reglamentación puede ayudar a garantizar que las vacunas sean más seguras que nunca. No obstante, es necesario aprender a manejar los datos generados por algunas de las técnicas más novedosas, que son sumamente sensibles. (Dellepiane et al., 2000; Gutiérrez, 2010; Suárez et al., 2011; Caisé, 2012)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos biológicos

- Vacunas de Gumboro pareadas.
- Embriones de pollo de 9 a 11 días de edad, 30 embriones por vacuna.

5.1.2 Recursos humanos

- Un estudiante investigador.
- Dos asesores profesionales.

5.1.3 Recursos de campo

- Hielera.
- Hielo.
- Papel.
- Lápiz/lapicero.
- Vehículo.

5.1.4 Recursos de laboratorio

- Jeringas de insulina estériles con aguja No. 22.
- Jeringas 3 y 5ml estériles.
- Beaker 100ml.
- Caja de Petri estéril.
- Tubos de ensayo estériles.

- Toallas de papel absorbente.
- Gasas estériles.
- Barniz para uñas o pegamento blanco líquido.
- Lápiz y marcador.
- Equipo de disección estéril (pinzas y tijeras de punta fina).
- Recipiente de 100ml estéril.
- Ovoscopio.
- Incubadora.
- Estufa a 37°C.
- Alcohol al 70%.
- Solución salina fisiológica.

5.1.5 Recursos físicos

- Equipo de oficina (Computadora, USB´s, papel bond, impresora).
- Laboratorio de Referencia Regional de Sanidad Animal (LARRSA) que se encuentra en el M-10 de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.1.6 Centros de referencia

- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca de la Universidad Rafael Landívar.
- Referencias Electrónicas.
- Artículos en Línea.

5.2 Metodología

5.2.1 Diseño de estudio

Fue un estudio descriptivo de corte trasversal.

5.2.2 Descripción del área

El LARRSA, categorizado como laboratorio bioseguridad grado tres.

5.2.3 Ubicación

La Universidad de San Carlos de Guatemala se encuentra en la Ciudad Universitaria, zona 12 Guatemala.

5.2.4 Determinación de la muestra

De acuerdo con la información que se recabó (en el Departamento de Registro de Insumos para Uso en Animales del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación) de las vacunas contra la enfermedad de Gumboro que se encontraron en el país, fueron un total de veintinueve vacunas de las cuales catorce de ellas contienen virus vivo de cepas intermedias. De este grupo se escogieron cinco, las cuales provienen de diferentes países, cuatro son importadas (Estados Unidos, México, Hungría, España) y una es nacional. Cada muestra fue pareada.

5.2.5 Metodología de campo

- Las muestras pareadas se obtuvieron directamente de los centros de expendio de cada uno de los biológicos que se evaluaron.
- La estudiante investigadora realizó una codificación de cada una de las muestras.
- Las muestras codificadas se llevaron al LARRSA aplicando la cadena fría para preservar la integridad de las vacunas; allí se realizó las titulaciones correspondientes.

- En la recolección de resultados se hizo uso de la boleta de campo de registros de vacunas (Anexo No. 1).

5.2.6 Análisis estadístico

- Se realizó una estadística descriptiva para estimar la dosis infectiva 50 en embrión de pollo.
- Se realizó un promedio de las muestras de las vacunas y se comparó con la información de la OIE y se efectuó una prueba de hipótesis para media (promedio) muestral.
- La información se presentó en cuadros y se analizaron los resultados obtenidos comparándolos con los recomendados por la OIE.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CUADRO 1 TÍTULOS OBTENIDOS DE LAS VACUNAS COMERCIALES DE LA ENFERMEDAD DE GUMBORO ANALIZADAS EN GUATEMALA 2016

Nombre de la vacuna	No. de muestra	Fecha de elaboración	Fecha de vencimiento	Título de las vacunas analizadas (DIE ₅₀ /ml)
A	2	Agosto 2015	Febrero 2017	10 ^{4.4}
B	2	Febrero 2015	Febrero 2018	10 ^{4.5}
C	2	Julio 2015	Julio 2017	10 ^{2.37}
D	2	Mayo 2015	Mayo 2017	10 ^{3.7}
E	2	Enero 2016	Enero 2018	10 ^{4.3}

Fuente: Elaboración propia

CUADRO 2 COMPARACIÓN DE LOS TÍTULOS OBTENIDOS DE LAS VACUNAS COMERCIALES DE LA ENFERMEDAD DE GUMBORO ANALIZADAS EN GUATEMALA VS. TÍTULOS DE REFERENCIA DE CASAS COMERCIALES 2016

Nombre	Título sugerido por la casa comercial (DIE ₅₀ /ml)	Título de las vacunas analizadas (DIE ₅₀ /ml)
A	10 ^{3.4}	10 ^{4.4}
B	10 ^{3.5}	10 ^{4.5}
C	10 ³	10 ^{2.37}
D	10 ²	10 ^{3.7}
E	10 ^{4.3}	10 ^{4.3}

Fuente: Elaboración propia

6.1 Análisis estadístico

Donde:

t = T de Student

\bar{x} = Promedio Muestral

μ = Media Poblacional

S = Desviación Estandar

n = Muestra

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

$$t = \frac{1.64 \times 10^4 - 1 \times 10^2}{\frac{1.19 \times 10^4}{\sqrt{10}}}$$

$$t = 2.08$$

Los resultados que se observan en el cuadro 2 muestran que individualmente cada vacuna que se analizó cumple con los requerimientos de la OIE (1×10^2 DIE₅₀/ml). Los estándares y controles pueden variar de un país a otro dependiendo de las necesidades locales y estos son imprescindibles para garantizar la calidad, inocuidad, potencia y eficacia de las vacunas veterinarias. (OIE, 2008b)

Al realizar la prueba de T de Student para una media de población se puede concluir que no existe diferencia significativa entre los títulos de las vacunas estudiadas y el parámetro establecido por la OIE.

Las vacunas nacionales mostraron una potencia adecuada y no hubo diferencia entre los títulos de las vacunas elaboradas en el país y las extranjeras.

De todas las vacunas examinadas, la vacuna C se encuentra por debajo del título de referencia que indica la casa comercial que las fabrica (Cuadro 2). Hay que tomar en cuenta que a la hora de verificar la titulación del virus tiene que ser,

como norma general, mayor a la de referencia, la cual indica un nivel de protección por arriba del parámetro establecido en la prueba de inmunogenicidad del inóculo primario para garantizar que, en cualquier momento antes de la fecha de caducidad, el título será, al menos, igual al establecido en la prueba de inmunogenicidad. Esto hace necesario que se agregue mayor número de partículas que los referidos. Es evidente que el título adecuado para la aprobación depende de la potencia requerida y de la velocidad de desaparición de las partículas virales en la vacuna. Como se indica mediante las pruebas de estabilidad, las cuales tienen por finalidad verificar que la vacuna es estable por 18 meses o más (según indica el laboratorio productor) cuando son elaborados y conservadas adecuadamente. (OIE, 2008c; Lobo, 2007)

Otro aspecto a tomar en cuenta es la utilización de la cadena fría, puesto que son los elementos y actividades que garantiza la potencia inmunizante de las vacunas desde su elaboración hasta su administración mediante su conservación a una temperatura apta que oscila entre 2°C y 8°C en todo momento. En este punto podríamos afirmar que el éxito o el fracaso de un sistema de inmunización, dependerá básicamente de la calidad y potencia inmunológica de las vacunas utilizadas y por eso es fundamental el mantenimiento de condiciones adecuadas desde el laboratorio productor hasta su aplicación. (Aquino, Frydman y Gómez, 2013; Lobo, 2007)

VII. CONCLUSIONES

- Los títulos de las vacunas analizadas se encuentran por arriba de los parámetros de titulación para la enfermedad de Gumboro que recomienda OIE.
- La cantidad de antígeno presente en las vacunas contra la enfermedad de Gumboro fue en promedio de título analizado de $1.6 \times 10^4 \text{DIE}_{50}/\text{ml}$.
- Los títulos de las vacunas producidas en Guatemala son similares a los encontrados en las importadas.
- El rango de título analizado se encontró entre $1 \times 10^{2.37} \text{DIE}_{50}/\text{ml}$ a $1 \times 10^{4.5} \text{DIE}_{50}/\text{ml}$.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar el estudio con más muestras para enriquecer los resultados y el análisis de la calidad de las vacunas que se manejan en nuestro medio.
- Efectuar este tipo de estudio en otras vacunas para el monitoreo del control de la calidad de los biológico en el país.
- Que el gobierno asegure y regule las evaluaciones a nivel de laboratorio de control de calidad y estabilidad de los productos biológicos.

IX. RESUMEN

El propósito del estudio fue evaluar la potencia inmunogénica y la cantidad promedio de antígeno de las vacunas de virus vivo de cepas intermedias de la Enfermedad de Gumboro que se comercializan en el país, a través de la inoculación en embrión de pollo. La investigación se realizó en el Laboratorio de Referencia Regional de Sanidad Animal (LARRSA), en el año 2016.

La enfermedad de Gumboro tiene relevancia económica en la industria avícola porque produce mortalidad que llega hasta 40% a nivel mundial, además de la inmunosupresión que produce. Nuestro país no posee evaluaciones sistemáticas y constantes de la capacidad inmunogénica, eso causa que no se tenga certeza de que la calidad se mantenga constante y tampoco que se cumplan con las normas que establece la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

El estudio fue descriptivo de corte trasversal. Las muestras fueron cinco vacunas pareadas de diferentes casas comerciales, estas se obtuvieron directamente de distribuidoras. Con las titulaciones obtenidas se efectuó un promedio de las muestras y se comparó con la referencia de la OIE. Se hizo una prueba de prueba de T de Student con 95% de confianza. Los resultados obtenidos muestran que individualmente cada vacuna que se analizó cumple con los requerimientos de la OIE ($1 \times 10^2 \text{DIE}_{50}/\text{ml}$). Se concluyó que no existe diferencia significativa entre los títulos de las vacunas estudiadas y el parámetro establecido por la OIE. El promedio de antígeno de las vacunas fue de $1.6 \times 10^4 \text{DIE}_{50}/\text{ml}$. Las vacunas nacionales mostraron una potencia adecuada y no hubo diferencia de la potencia entre los títulos de las vacunas elaboradas en el país y las extranjeras.

SUMMARY

The purpose of the study was to evaluate the immunogenic potency and the average antigen quantity of live virus of intermediate strains of Gumboro disease vaccines. Those are traded in the country, through the inoculation in chicken embryo. The research took place in the Laboratory of Regional Reference of Animal Health (LARRSA), in the year 2016.

Gumboro disease has an economic importance in the poultry industry because it produces 40% mortality reaching worldwide, in addition to the immunosuppression that produces in fowl. Our country has no systematic and consistent assessment of the immunogenicity, that causes the lack of constant quality of vaccines and probably that standards of the world organization of Animal Health (OIE) are not fulfilled.

This was a descriptive transversal cut study. Samples were five paired vaccines of different commercial trademarks; these were obtained directly from distributors. With the antibody titers it was obtained an average of samples and this was compared with the reference of the OIE. A T-test Student was performed with 95% confidence level. The result shows that each vaccine that was tested fulfills the requirements of the OIE ($1 \times 10^2 \text{DIE}_{50}/\text{ml}$). It was concluded that there is not a significant difference between the titers of the evaluated vaccines and the parameter set by the OIE. The Antigen average in the vaccines was of $1.6 \times 10^4 \text{DIE}_{50}/\text{ml}$. National vaccines showed a proper potency and there was no difference in the potency between the national and foreign vaccine titles.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aquino, A., Frydman, E. y Gómez, V. (2013). Cadena de Frío para el Nivel Operativo. Recuperado de http://www.msal.gob.ar/imagenes/stories/bes-graficos/0000000441cnt-2013-07_manual-cadena-frio-cdf15x15_impresion.pdf
2. Banda, A. (2015). Prevención contra la enfermedad de Gumboro: Tipos de vacunas, programas vacunales y vías de aplicación. Recuperado de <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/prevencion-contra-la-enfermedad-de-gumboro-tipos-de-vacunas-programas-vacunales-y-vias-de-aplicacion.html>
3. Baraibar, JA. (2006). Algunos conceptos sobre vacunas bacterianas y virales. *Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay*, 41 (163-164): 35-42.
4. Biarnés, M. (2014). Enfermedad de Gumboro. Recuperado de <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/13000/articulos-aves/la-enfermedad-de-gumboro-i.html>
5. Bruguere-Picoux, J. (1979). Contra la enfermedad de Gumboro hay un solo recurso: La vacunación. *Sección Avícola*, 21(8), 318-321.
6. Caisé Lara, E. (2012). *Manual de vacunación: para médicos, enfermeras y técnicos de la salud*. La Habana, CU: Editorial Universitaria.
7. Cuñetti, L. (2015). Generalidades de los Medicamentos Biológicos. Recuperado de http://www.boletinfarmacologia.hc.edu.uy/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=104

8. De Wit, JJ. y Baxendale, W. (2015). Enfermedad de Gumboro. Recuperado de <http://www.enfermedad-gumboro.com/sitemapasp>
9. Dellepiane, N., Griffiths E., y Milstien JB. (2000). Nuevos retos para asegurar la calidad de las vacunas. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud*, 72 (2): 43-50.
10. Gutiérrez, JA. (2010). *Inmunología Veterinaria*. DF, MX: El Manual Moderno.
11. Jackwood, DJ. (09 de junio de 2012). Infectious Bursal Disease. Recuperado de [http://www.merckvetmanual.com/mvm/poultry/infectious_bursal_disease/overview_of_infectious_bursal_disease_in_poultry.html? qt=&sc=&alt=](http://www.merckvetmanual.com/mvm/poultry/infectious_bursal_disease/overview_of_infectious_bursal_disease_in_poultry.html?qt=&sc=&alt=)
12. Jordan, FTW. y Pattison, M. (1998). *Enfermedades de las Aves*. MX, D.F.: Manual Moderno.
13. Kraemer, C. (2004). Untersuchungen zu Restpathogenität, Wirksamkeit und immunsuppressiver Eigenschaften verschiedener Gumboro-Virus Lebendimpfstoffe in Broilern. Recuperado de http://elib.tiho.hannover.de/dissertations/kraemerc_ss04.pdf
14. Lobo, E. (2007). Sistemas de calidad en vacunas veterinarias. *Redvet*, (8), 1-7.
15. Lukert, PD. y Mutalib, A. (1994). Infectious bursal disease. Recuperado de http://9e414ff3-a-8c8bf147-s-sites.Googlegroupscom/a/misena.edu.co/yimm-y-fabian-pinzon/archivoa-adjuntos-logger/EnfermedadInfecciosaDeLaBolsa.pdf?attachauth=ANoY7cpOzFP3piGNhVVdKhFHRLSsn_kwLkTTtSQxtqcalg3JxoanM3ErIBIQaSZJy4lh-Cn35MPGXOmdZYTxchEw_yYzao-7SCU-CF3vXrGVKdIVeTM8WwTOMmVD_k9eXuu1bJ0ZnwI4aXd4-Yiru_MTmCIYt0a6EmYpyw8dzU0ovo6P3gdh9j7i298SHCBBHdCkYQ0DYJ8p9DIu

gJ7Qx4eMXIwJ5_WeCOIxOiDhwW5_rbUmXFZtIGCKLLDLEIdA-gzQvt_
fNw9^{at}1px7SwsvUurkq ZLQOi1iw%3D%3D&attredirects=0

16. Matzer, N. (2010). *Avicultura Práctica Ilustrada*. Guatemala, GT.: Ediciones Superiores.
17. Mercado Común del Sur (Mercosur), (1997). Reglamento técnico para la producción y el control de vacunas, antígenos y diluyentes para avicultura. Recuperado de http://gd.mercosur.int/SAM/GestDoc/PubWeb.nsf/OpenFile?OpenAgent&base=SAM/GestDoc/DocOfic0Arch.nsf&id=832579C700726F0D0325770E00575E77&archivo=RES_004-1997_ES_RTMVacunas.doc.
18. Morán, MDJ. (1991). Prevalencia de la Enfermedad Infecciosa de la bolsa de Fabricio (de Gumboro) en aves de patio (*Gallus gallus*) en el parcelamiento La Blanca, municipio de Ocos, departamento de San Marcos. Tesis de Licenciatura, Med. Vet.: FMVZ / USAC: GT.
19. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). (2008a). Bursitis Infecciosa. Recuperado de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.7.01_Bursitis_infecciosa.pdf
20. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). (2008b). Biológicos de la Enfermedad de Gumboro. Recuperado de <http://www.ramericas.oie.int/in/pro-yectos/Camevet/fichas/biologicos/4GUMBORO.htm>
21. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). (2008c). Principios de Producción de Vacunas Veterinarias. Recuperado de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/1.01.08.%20Principios%20de%20producci%C3%B3n%20de%20vacunas%20veterin.pdf

22. OMS (Organización Mundial de la Salud). (2012). Validación de Pruebas OMS. Recuperado de <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/laboratorio/files/2012/08/Validaci%C3%B3n-de-pruebas-OMS.pdf>
23. Pagès-Mant, A. (2013). Vacunas para la enfermedad de Gumboro: Una mirada al pasado, un guiño al futuro. Recuperado de https://www.hipra.com/wps/wcm/connect/1f8ec58043f36d3495079d25884414e5/Vacunas_enfermedad_Gumboro_pasado_futuro.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=1f8ec58043f36d3495079d25884414e5
24. Rossi, L., Pedrique, M. y Gutiérrez, S. (2008). Productos Biológicos. Recuperado de http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_11_Productos_Biol%C3%B3gicos.pdf
25. Sigmann, O. y Neumann U. (2000). *Kompendium der Geflügelkrankheiten*, DE: Schlütersche.
26. Suárez, M., Cutuli, MT., Blanco, MM., Gibello, A., Gónzales, E., Duato, L. y Goyache, J. (2011). Sistemas de Inmunización Activa. Vacunas. Vacunas Vivas y Vacunas Inactivadas. Autovacunas. Nuevas estrategias en la elaboración de vacunas. Vacunas de subunidades, sintéticas, recombinantes, de delección y de ADN. *Reduca, Serie Veterinaria*, 3 (15): 153-190.
27. Stewart-Brow, B. y Grieve, G. (1993). La enfermedad de Gumboro: Una patología Mundial. *L'Aviculteur*, 545 (6): 72-75.
28. Tizard, IR. (2009). *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. Barcelona, ES: Elsevier.

29. Toscano, A., Jiménez, A., Rodríguez E., Gómez, E. y Chapa, J., (2002). Determinación del daño a la bolsa de Fabricio causada por la aplicación de vacunas a virus vivo con cepas intermedias, así como la protección al desafío. Recuperada de http://www.acpv.info/assets/WPDC/w_pdcproceedings_2002.pdf

XI. ANEXOS

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**EVALUACIÓN DE LA POTENCIA DE VACUNAS COMERCIALES
CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO EN INOCULACIÓN EN
EMBRIÓN DE POLLO**

f. _____
ALICIA DEL CARMEN ZAMBRANO VALENZUELA

f. _____
M.Sc. Lucero Serrano Arriaza de Gaytán
ASESORA PRINCIPAL

f. _____
M.A. Jaime Rolando Méndez Sosa
ASESOR

f. _____
M.Sc. Lucrecia Emperatriz Motta Rodríguez
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. _____
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
DECANO