



Factores de importancia en los brotes de la enfermedad de Marek

• F. Javier Torrubia Díaz (*)

consecuencias prácticas y, sobre todo, volver a recordar la importancia de ciertas prácticas que la rutina provoca que algunas veces se nos olviden.

En nuestra opinión, a pesar de la disponibilidad de vacunas efectivas y seguras, las buenas prácticas de aplicación y el empleo de aves menos susceptibles a la EM, ésta se sigue presentando. Nos gustaría elaborar esta opinión más detalladamente, a través de las líneas de la historia pasada de la EM, disponibilidad de vacunas, combinaciones de vacunas, posibles factores que influyen en la aparición de brotes de la EM y las posibilidades de mejorar el efecto de la vacunación.

Un poco de historia

La primera descripción de la EM, fue realizada por el Dr. Joseph Marek, científico húngaro, en 1907. En su estudio describió una enfermedad parálitica que afectaba a las patas y alas de los gallos jóvenes. Entre 1920 y 1939 otros investigadores establecieron las características clínicas, epidemiológicas y patológicas de la EM. En el período de 1940 a 1959 se trató de la transmisión de la EM y de las características virológicas. La investigación en la edad moderna se llevó a cabo a partir de 1960. Nombres tan importantes a este respecto como Fabricant, Calnek y Witter se manifestaron a favor de las vacunas HVT. En Europa, Biggs y Churchill, en el Reino Unido, contribuyeron considerablemente al conocimiento de la EM.

Su vacuna atenuada del serotipo 1, HPRS 16 fue la primera disponible comercialmente. En los Países Bajos el Dr. Bart Rispens y colaboradores - Schat, Maas y De Boer-, desarrollaron la tan conocida vacuna Rispens -CVI 988-. Estos investigadores fueron capaces, antes de que cualquier vacuna estuviera disponible, de transmitir las formas patológicas de la EM por inoculación en aves de 1 día de edad, de suspensiones de células tumorales, sangre y otros tejidos.

Vacunas

El grupo de los virus de la enfermedad de Marek y los herpes virus de pavo comprenden 3 serotipos, que son respectivamente serotipos 1, 2 y 3. Los virus del serotipo 1 incluyen todos los virus de campo y las cepas vacunales HPRS 16 y CVI 988. Los virus del serotipo 2 son aquellos virus que perdieron la capacidad de transformar linfocitos en células tumorales, de los que son ejemplo las cepas SB1 y 301/B1. El virus del serotipo 3 es el virus HVT que tiene su origen en pavos.

La vacuna del serotipo 1 CVI 988 - Rispens- está basada en un virus atenuado aislado de aves sanas -cepa homóloga-, muy eficaz y segura para todas las estirpes comerciales. La razón de que todavía esté clasificada

(*) Dirección del autor:
Merial Laboratorios, S.A.
Departamento de Avicultura
Tarragona, 161 - 3ª planta
08014 Barcelona

Resumen

Se describen las posibles causas de la enfermedad de Marek, como fallos durante el proceso de vacunación, mayor virulencia del virus, o infección simultánea con otros virus. También se pasa revista a las distintas vacunas empleadas, sus características, y una recomendación general a seguir ante los brotes de esta enfermedad.

Palabras clave: Enfermedad de Marek, cepas vacunales, vvMDV, vacunación.

Summary

The possible causes of the growing incidence of Marek disease are reviewed. These are failures during vaccination procedures, increased virulence of MDV, and simultaneous infection with other avian viruses. The nature and characteristics of available vaccines and a general advice to fight this disease, are commented.

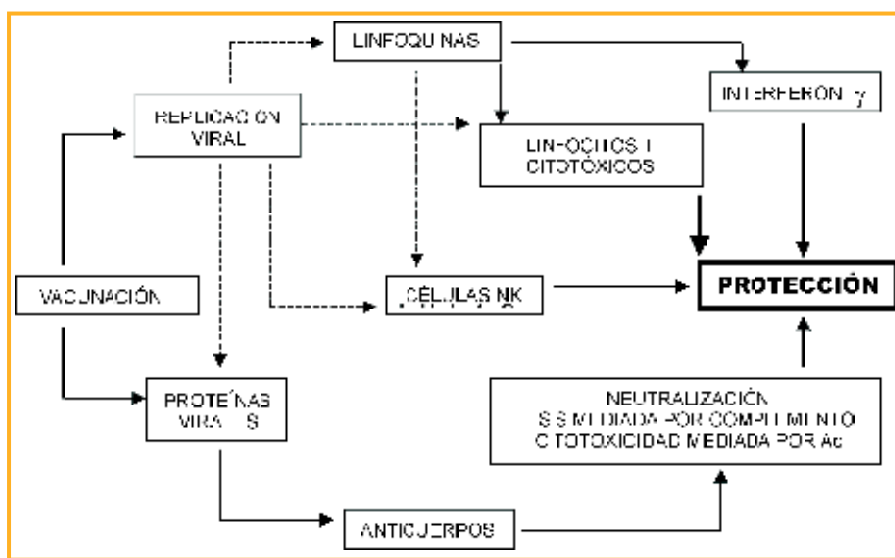
Key words: Marek disease, vaccine strains, vaccination procedures, vvMDV.

Introducción

La razón de escribir este artículo, no es el anuncio de un nuevo avance revolucionario en el desarrollo de vacunas, ni la introducción de estirpes de aves totalmente resistentes a la enfermedad de Marek -EM-, sino el deseo de evaluar algunas informaciones y sus

como una cepa del serotipo 1, es porque la cepa tiene todavía alguna patogenicidad residual para estirpes que son extremadamente sensibles a la EM como la Rhode Island -RIR-.

Tal como ocurre con todos los herpesvirus, en la inmunidad ante la EM influyen varios mecanismos. En el gráfico siguiente se ilustra el mecanismo de respuesta de las aves a la vacunación contra la EM.



Desde 1970, en que las primeras vacunas comenzaron a comercializarse, los problemas asociados a la EM pudieron empezar a controlarse. Las vacunas HRPS 16, HVT y CVI 988 -Rispens- fueron inicialmente todas vacunas asociadas a célula, lo que significa que el virus todavía está dentro del fibroblasto de embrión del pollo, que son las células en las cuales se multiplica. Esto implica que para mantener intactas las células que contienen los virus, tienen que estar conservadas a temperaturas por debajo de -80°C. Las mejores condiciones de almacenamiento son en nitrógeno líquido que tiene una temperatura de -196°C. Estas rígidas condiciones de almacenamiento dificultaron el uso de vacunas asociadas a células, seguramente más conocidas como “congeladas”.

Una vez que los investigadores consiguieron obtener una vacuna independiente de células, por liofilización del virus HVT, se pudo obtener una cobertura mundial. Además de que es fácil el almacenamiento y la aplicación, la vacuna liofilizada HVT también producía una protección satisfactoria. Debido a las ventajas mencionadas, se bloqueó la distribución de vacunas congeladas.

La situación en esos primeros días, fue que la vacuna HPRS-16 se usó en

rollo más temprano de la inmunidad con las vacunas congeladas, debido a que la interacción de los anticuerpos maternos de la EM con los virus vacunales es menos probable.

En Europa también se informó de más brotes de la enfermedad de Marek desde 1980. Francia, España, Italia, Alemania, etc., tuvieron que enfrentarse a problemas que no podían ser controlados con la vacuna HVT liofilizada. Una vez que la industria hizo el cambio de vacunas liofilizadas a vacunas congeladas, la vacuna de cepa Rispens se hizo popular en muchos países en Europa y en el Medio y Lejano Oriente. El cambio de vacuna HVT liofilizada a congelada junto con una mejora en el cuidado de la vacunación, no pudo prevenir que los brotes de Marek continuaran apareciendo, primero en EE.UU. y luego también en Europa y en el Medio Oriente. En muchos casos los esquemas de vacunación basados en una sola vacunación de HVT, ya no eran suficientes y la inoculación de una combinación de los virus vacunales parecía necesario.

Primeramente se utilizó HVT -serotipo 3- con SB1 -serotipo 2-. La combinación de diferentes serotipos induce un efecto protector sinérgico que permite al sistema inmune controlar las consecuencias clínicas de la infección de la EM. Algunos investigadores demostraron que la combinación fue superior en capacidad protectora que cualquiera de las cepas por separado. La combinación HVT+SB1 es la vacuna de elección en la industria americana del broiler, usándose también en pollitas comerciales, aunque haya evidencias de que en alguna estirpe de tipo Leghorn pudiera aumentar la incidencia de leucosis, por lo que su utilización en Europa ha sido bastante limitada.

Pero poco a poco, tampoco esta combinación demostró ser suficiente para la protección total, con lo que se llegó a la combinación de vacunas CVI 988 -serotipo 1- y HVT -serotipo 3-, en

principio sin ninguna base científica, aunque posteriormente se demostró, en ensayos controlados de laboratorio, lo acertado de la práctica.

En la tabla siguiente se ilustra el orden de protección de las diferentes vacunas ante los virus de EM.

Protección	vMDV	vvMDV	vv+MDV	vv+MDV	vv+MDV
↑	HVT	HVT+SB1	Rispens	Rispens +HVT	Rispens +HVT+SB1

Esto demuestra que las cosas han cambiado desde 1970. No podemos simplemente explicar los brotes de EM por deficientes técnicas de vacunación, por la vacuna, o por el manejo. En todas las áreas, a pesar de la mejora de las vacunas, los problemas de EM todavía ocurren.

Posibles causas de brotes de EM

En primer lugar hay que diferenciar entre las causas que pueden ser atribuidas al mal uso o mal manejo de las vacunas de EM, de lo que hablaremos posteriormente y las posibles causas relacionadas con factores más estructurales, como el patotipo de las cepas de campo, o infecciones mixtas de virus virulento de la EM con otros antígenos aviares. Sin embargo, hay multitud de causas que pueden influir en la gravedad de la EM. Mencionemos algunas de las más importantes, aunque no las únicas:

a) Limpieza y desinfección: Es imposible eliminar el virus del medio ambiente, pero se puede reducir su concentración.

b) Descanso sanitario de las instalaciones: Un mayor tiempo de descanso puede reducir de forma significativa

la exposición al virus y otros agentes patógenos que interactúen de forma aditiva o sinérgica.

c) Densidad y ventilación: Los casos más graves ocurren en naves con mala ventilación, por lo que se incrementa la concentración de virus en

el ambiente, además de que muchos de los brotes por virus muy virulentos ocurren en zonas de alta densidad avícola.

d) Enfermedades inmunosupresoras concomitantes: Sobre todo la enfermedad de Gumboro, la Anemia Infecciosa y las infecciones por Retrovirus.

e) Prácticas de alimentación y manejo –stress–: Una severa restricción alimenticia en reproductoras y otros factores que induzcan competencia o baja uniformidad, o manejos innecesarios o excesivos, propician la presentación de casos.

f) Complejos de producción multi- edad: Su resultado es la perpetuación de los problemas infecciosos -no sólo

de la EM- cuyo ciclo es prácticamente imposible de interrumpir.

g) Resistencia genética: De todos es conocida la mayor susceptibilidad de ciertas estirpes, pero que normalmente el tiempo se encarga de que vayan desapareciendo o son modificadas por sus propios creadores.

A modo de resumen, se exponen en el esquema al pie de ésta página:

Detengámonos un momento a comentar los cambios estructurales en la patología de EM. Hasta ahora se han descrito las posibles causas de brotes de EM que podrían ser «reparadas». Pero, por otra parte, si algo ha sucedido en el virus de campo, tenemos que considerar una nueva situación que exige otro comportamiento.

Originalmente, los virus de EM aislados de unos broilers en 1980 en EE.UU. que sufrían brotes de la enfermedad a pesar de estar vacunados, fueron llamados «variantes», porque se creyó que pertenecían a otros serotipos diferentes de las cepas de campo originales. Ahora sabemos que estos así llamados «virus muy virulentos de la enfermedad de Marek –vvMDV–», no son diferentes en cuanto a serotipo, pero sí difieren en su patogenicidad.

Witter propone la siguiente definición de trabajo para los vvMDV aislados: «Los aislados vvMDV son aquellos que inducen lesiones de EM en pollos susceptibles vacunados con HVT, en un mayor grado que un aislado de virus de Marek prototipo tal como JM o GA».

En Europa, a partir de 1980 se probó la existencia de cepas vvMDV en informes



de Powell y Lombardi en Italia, De Boer del Instituto Central Veterinario de Holanda y otros. La causa exacta de que las cepas de campo cambiaran a una mucho mayor patogenicidad no es bien conocida. Lo único cierto es que actualmente son más patógenos. Una característica común de los vvMDV es la capacidad de infectar muy tempranamente, y cuando hay una competición entre los virus vacunal y de campo, a menudo, esta competición es perdida por el virus vacunal. Algunos investigadores, como De Boer, creen que la teoría del aumento de la virulencia del virus de campo no siempre puede mantenerse, pues aisló, a partir de vvMDV aislados de Argelia, Holanda, y de una cepa aislada por Rosenberger en EE.UU., virus de la Anemia Infecciosa que es inmunosupresor tal como lo es el virus de EM. La infección conjunta del virus de EM + CAV sería responsable del aumento en las pérdidas por la EM.

El hecho es que las cosas han cambiado y que debemos concentrarnos en estrategias para luchar contra la EM tal como se presenta actualmente.

¿Qué hacer ante un brote de la Enfermedad de Marek?

1. Antes de nada hemos de asegurar un diagnóstico correcto. La mejor manera es generalmente recoger muestras de tejido en formalina al 10% y enviarlas para histopatología. El diagnóstico diferencial se debe hacer especialmente con leucosis aviar. Cerciórese de incluir la bolsa de Fabricio, bazo, timo, nervio ciático, proventrículo y órganos afectados por tumores.

2. Asegúrese de que se llevan a cabo correctamente los programas de

vacunación apropiados y, sobre todo, de la reconstitución y administración de la vacuna.

3. La limpieza y la desinfección de las instalaciones entre lotes asegurarán que el intervalo entre la vacunación y el desafío es suficientemente largo para que la vacuna trabaje. Si los animales se colocan en un ambiente muy contaminado, no habrá ocasión de que la vacuna ejerza su efecto. Sería posible mantener los pollitos en la incubadora, pero aparte de que, por temas de organización, esto es casi imposible, el ambiente de la misma provocaría una cierta deshidratación de los mismos.

4. Compruebe la incidencia de otros agentes inmunosupresores como CAV, IBDV y subtipo J de la leucosis aviar porque pueden afectar la respuesta a las vacunas de Marek.

5. La presencia de cepas más virulentas de campo no cambia la necesidad de comprobar los 4 puntos anteriores. La única mejora que podemos añadir al programa de vacunación es considerar la revacunación a los 6-8 días. Aunque en principio no hay explicación técnica para que funcione esta revacunación, hay experiencias de campo que, al menos estadísticamente, indican su buen comportamiento.

NORMAS DE ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN DE LAS VACUNAS CONGELADAS

1 - Precauciones durante el almacenamiento

- Almacenar los viales de vacuna en nitrógeno líquido -a -196°C-, comprobando cada día que el nivel de nitrógeno líquido es satisfactorio. No es necesario que cubra las ampollas.

- Almacenar el diluyente entre +2°C y +25°C.

2 - Precauciones antes de empezar la reconstitución

- Utilizar material para inyectables, estéril que no contenga antisépticos -o desinfectantes-, para todo el procedimiento.

- En épocas frías, o si el diluyente se mantiene almacenado en refrigeración, dejar atemperar el diluyente hasta temperatura ambiente, antes de utilizarse para reconstituir la vacuna. Esto tiene por objeto que no haya una diferencia de temperatura demasiado grande entre la vacuna descongelada y el diluyente.

3 - Recomendaciones para la preparación de la suspensión vacunal

- Llevar guantes y gafas de seguridad durante las operaciones de descongelado y apertura de la ampolla.

- Retirar del contenedor de nitrógeno líquido únicamente las ampollas que se vayan a utilizar de forma inmediata.

- Descongelar rápidamente el contenido de la ampolla por agitación en un baño de agua a 27°C -normalmente 1 minuto-. Bajar el contenido del cuello de la ampolla mediante suaves golpecitos con la uña. Abrir las ampollas cuando el último cubito de hielo se haya descongelado.

- Mantener los brazos estirados al abrir la ampolla para prevenir cualquier riesgo de lesiones, en caso de que la ampolla se rompa de forma violenta. Estadísticamente se ha comprobado que esto ocurre en menos de un 0,05% de los casos y se debe a que las ampollas se cierran con llama, y cuando el proceso de cerrado no es absolutamente perfecto, puede quedar un poro muy pequeño, causa de estas roturas.

- Inmediatamente después de la apertura, absorber el contenido de la ampolla de vacuna con una jeringa estéril de 5 ml equipada con una aguja de 18 G.

- Transferir la suspensión delicadamente -sin presionar demasiado rápidamente el empujador de la jeringa- al envase del diluyente.

- Aspirar 2 ml del disolvente en la misma jeringa.

Temperatura del diluyente	Pérdida de título
+ 22/25 °C + 4 °C	0 % 28,3 %

Conclusiones

Hemos tratado de analizar las razones por las que ocurren brotes de la enfermedad de Marek. Indudablemente, el manejo de los planteles, higiene y buenas prácticas de vacunación, etc., deben mantenerse a altos niveles para garantizar un óptimo efecto de las vacunas existentes. Pero hemos de enfrentarnos al hecho de que en el campo tratamos con virus Marek que es más virulento que antes. ¿Es a causa de infecciones mixtas con otros patógenos aviáres, como CAV, Gumboro, u otros, o a causa del hecho que el virus de la EM mutó en sí mismo a un patotipo más virulento?

Ambas opciones son posibles. Lo cierto es que las vacunas todavía pueden dar una respuesta, y no hay razón para el pesimismo.

De momento, tenemos los medios para luchar contra la EM en aves. Dependiendo de la situación en cada área y de cada plantel, se debe decidir el programa de vacunación que se adapta mejor. Para ello, hemos ofrecido un número de posibles alternativas. Para vacunas contra la EM, nuevas, eficaces, seguras, fáciles de almacenar y/o de aplicar, tendremos que esperar a tener los resultados de las investigaciones en el campo de la biotecnología, que no llegarán a estar disponibles quizás hasta la próxima década.

Bibliografía

(Se enviará a los interesados que la soliciten) ■

Tiempo tras descongelación	Pérdida de título
5 minutos	17 %
10 minutos	37 %
15 minutos	57 %

Temperatura del agua	Pérdida de título
27 °C (correcta)	0 %
15 °C (demasiado fría)	37 %
39 °C (demasiado caliente)	25 %

- Enjuagar la ampolla vacía con 2 ml del disolvente, dejándolo resbalar por las paredes de la ampolla. Volver a aspirar estos 2 ml de disolvente en la jeringa y transferirlo al envase del diluyente.

- Repetir de nuevo el procedimiento de enjuagado.

- La vacuna diluída preparada tal como se ha descrito, se homogeneiza por agitación lenta -rotando el envase varias veces-, entonces está lista para su uso. Debería ser utilizada inmediatamente después de su preparación -en el curso de la hora siguiente-. Por esto es por lo que la suspensión vacunal debe prepararse solamente a medida que se necesite.

- Agitar suavemente el vial de vacuna reconstituída de vez en cuando -aproximadamente cada 10 minutos-, para homogeneizar la suspensión vacunal durante la vacunación.

- Ajustar la jeringa y monitorizar la inyección durante el proceso de forma que mantenga el volumen de dosis, a 0,2 ml.

- Vía de administración: aunque se ha publicado que para la cepa Rispens la vía IM funciona algo más rápidamente, en condiciones de campo no parece que haya muchas diferencias con la vía SC, por lo que cualquiera de las dos vías es adecuada. Más controvertida es la administración "in ovo", pues en principio debería obviar los animales que no son bien inyectados con la suspensión vacunal. Sin embar-

go, diferentes ensayos han demostrado que si la administración al primer día se realiza correctamente, funciona algo mejor que "in ovo", por lo que esta vía se utiliza principalmente en broilers, en zonas en las que la mano de obra es cara o escasa.

- Descartar cualquier ampolla cuyo contenido haya sido descongelado accidentalmente. En ningún caso deberán estas ampollas ser congeladas de nuevo.

- No reutilizar viales abiertos de vacuna reconstituída.

- Para el final se ha dejado el tema de la adición de farmacológicos, antibióticos y otras vacunas aviáres al diluyente de Marek. Hasta ahora los productores de vacunas son reacios a recomendar la inoculación combinada y no sin razón. En primer lugar, por razones de riesgo, pues ninguna compañía aceptará ninguna responsabilidad sobre la calidad de la vacuna de Marek, cuando el consumidor final añada cualquier suplemento al diluyente sin conocimiento del impacto que ese suplemento cause sobre el título del virus. Un segundo argumento es que se han llevado a cabo numerosos experimentos en los cuales se comprobó la incompatibilidad de la mayoría de antibióticos, electrolitos y algunas vacunas, como las de Reovirus, sobre el título de virus vacunal en el diluyente. Por ello, antes de añadir cualquier aditivo a éste, consulte con el productor de la vacuna el efecto del mismo.