

## **VACUNAS Y TECNICAS DE VACUNACION EN INCUBADORAS**

La vacunación de los pollitos o pollitas BB en la Planta de Incubación (P.I.) es uno de los puntos más importantes y críticos para asegurar una buena calidad y protección del ave, disminuyendo de esta manera pérdidas considerables atribuibles a diferentes enfermedades.

Diferentes factores como manejo de vacunas, prácticas de reconstitución de la vacuna, calidad y tipos de vacunas empleadas, técnicas de administración, esterilización de los equipos de vacunación (manuales o automáticos), , desinfección de los ambientes, bioseguridad, entre otros convergen para lograr un óptimo manejo del pollito en la Planta de Incubación y por lo tanto una buena calidad, performance y efectividad en la prevención de enfermedades de las aves.

### **VACUNAS**

Las clases de vacunas que se emplean en la P.I. son:

#### **1. VIVAS**

- 1.1 Congeladas : Marek, Gumboro, Viruela y Recombinantes.
- 1.2 Liofilizadas
  - 1.2.1 Vía Inyectable : Gumboro (Complejo Ag-Ac), Marek, Viruela Aviar.
  - 1.2.2 Vía Spray : Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Pneumovirus Aviar
- 1.3 Suspensión : Coccidia.

#### **2. INACTIVADA**

- 2.1 Oleosas : Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Hepatitis a Corpúsculos de Inclusión.

#### **1. VACUNAS VIVAS**

En estos biológicos el antígeno viral, por una serie de mecanismos, ha sido atenuado o modificado para que, posterior a su reconstitución y aplicación en el ave, se produzca en éste un efecto de respuesta inmunológica y reacción protectora.

##### **1.1 CONGELADAS**

Corresponden a este grupo las vacunas contra las enfermedades de Marek, Gumboro, Viruela y las vacunas Vectorizadas o Recombinantes.

Debido a que estas vacunas se conservan en nitrógeno líquido (-196°C) y que las vacunas de Marek y combinaciones son asociadas a células, durante los procesos de Descongelación, Reconstitución y Administración de la solución vacunal pueden ocurrir diversos errores con consecuencias significativas en la persistencia del título (PFU) de la vacuna de Marek, incrementando el riesgo de presentación clínica o subclínica de la enfermedad. Debido a esto debemos tener en cuenta las siguientes consideraciones de manejo:

##### **a) Temperatura del agua contenida en el Recipiente de Descongelación**

La temperatura del agua de descongelación influye en la pérdida del título vacunal. En términos generales se indica que entre 25°C a 29°C no existe pérdida del título, pero estos rangos pueden variar de acuerdo al laboratorio productor de la vacuna, en dicho caso seguir las recomendaciones del mismo

**b) Tiempo de Descongelación y Reconstitución de la Ampolla**

Estudios realizados por Basarob y Hall (1985) demostraron como un mayor tiempo de descongelación y reconstitución de las ampollas de Marek puede disminuir el título de la vacuna.

Tiempo de Descongelación y Reconstitución de la ampolla de Marek	Perdida del Título de la vacuna ( % )
9 0 segundos (control)	0
5 minutos	17
10 minutos	34
15 minutos	53

Fuente: Kreager, K. Good results with polyvalent Marek vaccine, Poultry – Misset 85

**c) Calibre de la Aguja**

Ensayos realizados demostraron la importancia del calibre de las agujas en la reconstitución de las ampollas de Marek en el respectivo diluyente y su correlación con la pérdida del título vacunal.

Calibre de la Aguja para Reconstitución de la ampolla de Marek	Pérdida del Título de la vacuna ( % )
18 G (control)	0
20 G	15
21 G	27
22 G	31

**d) Enjuague del cuerpo y tapa de las ampollas de la vacuna de Marek**

Esto permite recuperar entre el 12.8 a 14% del título vacunal.

**e) Tiempo de Uso de la Solución Vacunal una vez reconstituída**

Diferentes pruebas se han realizado, tanto a nivel internacional como nacional, concluyendo que el tiempo ideal para el consumo de la solución vacunal es de 30 minutos.

Tiempo de consumo de la Solución Vacunal (minutos)	Pérdida del Título de la Solución Vacunal ( % )		
	Prueba "A"	Prueba "B"	Prueba "C"
30'	12.4	12.0	12.3
45'	15.5	18.4	--
60'	18.7	25.0	12.3
90'	23.7	39.1	16.6

Prueba "A" y "B".- Realizadas por Luíber Flor V. (Técnica de Conteo Celular)

Prueba "C".- Realizada por un laboratorio proveedor de vacuna. (Título vacunal por PFU).

Los tiempos de uso de la solución vacunal se pueden extender cierto lapso dependiendo de las indicaciones particulares de cada Laboratorio productor, así la gran mayoría de ellos recomienda usar la vacuna en un tiempo óptimo de 30 min. y un tiempo no mayor de 45 min. Otros Laboratorios indican que la solución vacunal se puede consumir sin ningún problema hasta un tiempo de 60 min.

### **f) Efecto de Antibióticos en combinación con la vacuna de Marek**

Generalmente ciertos antibióticos son adicionados y combinados con la vacuna de Marek. Se sabe que pequeñas cantidades de estos pueden reducir mucho la eficacia de la vacuna debido a cambios en el pH y osmolaridad.

Según ensayos realizados por Nikki Kinney y Amy Robles (1994) se demostraron los efectos de diferentes antibióticos combinados con la vacuna de Marek, observándose una relación directa entre el antibiótico empleado y el porcentaje de pérdida del título vacunal, tal como se muestra en el siguiente cuadro.

<b>Antibiótico (Concentración Final)</b>	<b>Resultados</b>
<b>Enrofloxacina (3,23 %)</b>	37% de pérdida de PFU al momento de la preparación. 51% de pérdida de PFU después de 1 hora a 4 °C
<b>Enrofloxacina (6,0 %)</b>	83% de pérdida de PFU al momento de la preparación. 94% de pérdida de PFU después de 1 hora a 4 °C
<b>Gentamicina (Garasol). 0.05 mg/0.2 mL. (*)</b>	19% de pérdida de PFU al momento de la preparación. 32% de pérdida de PFU después de 30 minutos a 4 °C
<b>Penicilina G Procaínica (200000 UI/mL) + Sulfato Dihidroestreptomicina (0,25 g/mL)</b>	11% de pérdida de PFU al momento de la preparación. 15% de pérdida de PFU después de 1 hora a 4 °C
<b>Ceftiofur Sódico 0,12 mg/0.2 mL</b>	No hubo pérdidas en el título vacunal

Fuente: Nikki Kinney y Amy Robles, 43 Western Poultry Disease Conference – CA 1994

(\*) Diferentes avances se han realizado con respecto a este antibiótico y su uso combinado con la vacuna de Marek, tal es así que algunos laboratorios han incluido estabilizadores en el excipiente pudiendo sacar al mercado un producto bufferado, lo cual disminuye significativamente sus efectos negativos contra la vacuna de Marek. Por referencias dadas por diferentes investigadores actualmente el porcentaje de pérdida del título vacunal causada por este antibiótico puede variar entre 10 a 15 %.

### **g) Temperatura de conservación del diluyente con la vacuna durante la vacunación**

La temperatura de la bolsa del diluyente que ya contiene la solución vacunal durante el proceso de vacunación también es un punto crítico a tener en cuenta. Diferentes ensayos se han realizado concluyendo que un incremento de la temperatura afecta negativamente el título de la vacuna.

<b>Temperatura del Diluyente con la vacuna de Marek</b>	<b>Pérdida del Título de la Solución Vacunal</b>
<b>Cerca a despigadores (*)</b>	Dependiendo de la distancia del despigador a la bolsa de diluyente, de <b>8% a 25%</b> de pérdida adicional en comparación con el diluyente manejado bajo condiciones normales.
<b>Expuestos a los Rayos Solares (**)</b>	Dependiendo de la intensidad de los rayos solares en la zona de evaluación, de <b>10% a 39%</b> de pérdida adicional en comparación con el diluyente manejado bajo condiciones normales.

(\*) Prueba realizada por Sandra S. Cloud. University of Delaware. (Título vacunal PFU)

(\*\*) Pruebas realizadas por Luíber Flor V. (Técnica de Conteo Celular)

#### **h) Vías de Administración.**

Se aplican por inyección subcutánea a nivel del tercio medio de la región dorsal del cuello, ya sea por máquinas automáticas o jeringas manuales.

#### **i) Otros factores que afectan el título de la vacuna de Marek**

Diferentes factores adicionales pueden también afectar el título vacunal, aunque no se tienen reportes estadísticos de éstos en la práctica, es muy importante prevenirlas con la finalidad de mantener un correcto título. Algunos de los factores adicionales más frecuentes son:

- Descongelación de las ampollas vacunales dentro del tanque de nitrógeno
- Retirar más de dos ampollas del tanque de nitrógeno para el proceso de descongelación.
- No extraer el contenido total de la ampolla al momento de la reconstitución.
- Presencia de Conectores “T” y no “Y” en la bifurcación de la tubería que va de la bolsa del diluyente a las máquinas vacunadoras.
- Distancia e inclinación de las tuberías desde la bolsa de diluyente hasta las máquinas vacunadoras.

### **1.2 LIOFILIZADAS**

Corresponden a este grupo las vacunas contra las enfermedades de Gumboro, Marek, Viruela aviar, Newcastle, Bronquitis Infecciosa y Pneumovirus aviar. Las vacunas liofilizadas se presentan en forma de pastillas sólidas dentro de frascos de vidrio estériles de diferentes dimensiones y sellados al vacío. En términos generales debemos de tener en cuenta las siguientes consideraciones de manejo:

#### **Conservar en refrigeración a un rango de temperatura entre +2 °C a +8 °C.**

La temperatura de conservación tiene que tener mínimas variaciones térmicas, el rango óptimo de conservación es de +4°C a +6°C.

#### **Nunca exponer de manera prolongada ni directa a los rayos solares.**

La variación de temperatura por encima del rango recomendado afecta y altera el título del antígeno vacunal, y por ende su viabilidad.

#### **Transportarlas en recipientes adecuados.**

El traslado se debe realizar en cajas térmicas que aseguren mantener la temperatura dentro de los rangos especificados. Se pueden emplear preservantes térmicos o cold pack en volúmenes adecuados dependiendo del tamaño de la caja térmica, cantidad de frascos liofilizados a trasladar y el tiempo que durará el traslado, generalmente los preservantes tienen un tiempo de duración de 24 horas.

#### **Al momento de destapar el frasco comprobar la presencia de vacío.**

La mayoría de las vacunas liofilizadas son selladas al vacío, por lo que al momento de destapar el frasco debe ingresar aire al interior y por lo tanto se debe percibir un ligero sonido de succión. Sin embargo, algunas vacunas son ahora llenadas con presión negativa de nitrógeno al final del proceso de liofilizado en lugar de crear un vacío profundo como era hecho anteriormente. Hay que tener en consideración que la presencia de un gas inerte y estéril en lugar de vacío tiene notorias consecuencias para el usuario final: al abrir el vial hay mucho menos succión de aire de lo que normalmente puede ser percibido.

## **Vías de Administración.**

### **VACUNAS LIOFILIZADAS DE APLICACIÓN VIA INYECTABLE**

Corresponde a este subgrupo la vacuna única contra la enfermedad de Gumboro, desarrollada con la tecnología complejo antígeno-anticuerpo donde el virus de gumboro se encuentra unido a inmunoglobulinas específicas llamadas VPI (Inmunoglobulinas Protectoras del Virus). Este tipo de vacuna liofilizada se administra en combinación con la vacuna de Marek por vía subcutánea a nivel del tercio medio de la región dorsal del cuello, ya sea por máquinas automáticas o jeringas manuales.

Hay que tener las siguientes consideraciones de manejo y aplicación durante su uso:

- Retirar solo los frascos que se van a utilizar para la reconstitución.
- Destinar una jeringa con su respectiva aguja exclusivamente para la vacuna de Gumboro.
- Emplear jeringas de 3 ml para presentaciones de 1000 ds y jeringas de 10 ó 20 ml para presentaciones mayores.
- Dependiendo de la dosis de cada frasco retirar 2 ml de diluyente de Marek o diluyente tamponado por cada 1000 dosis de vacuna de Gumboro.
- Incorporar el diluyente dentro de los frascos de vacuna liofilizada para su reconstitución.
- Agitar suavemente los frascos y asegurarse de que la pastilla liofilizada se haya disuelto por completo.
- Retirar del frasco la vacuna reconstituída e introducirla dentro de la bolsa de diluyente.
- Si las condiciones de bioseguridad y limpieza son las adecuadas enjuagar el frasco vacunal con el mismo diluyente.
- Usar toda la solución vacunal dentro de las 2 horas de reconstituída la vacuna. Es importante anotar en la bolsa de diluyente la hora de reconstitución de la vacuna de Gumboro.
- La vacuna liofilizada de Gumboro debe ser administrada en el diluyente de Marek después de que se haya adicionado el antibiótico y antes de adicionarse la vacuna de Marek.
- Siempre debe llevarse un registro del lote y fecha de vencimiento de la vacuna
- En la refrigeradora de la incubadora procurar almacenar las vacunas liofilizadas de aplicación inyectable en divisiones o parrillas diferentes a donde se encuentren ubicadas las vacunas liofilizadas de aplicación en spray.

### **VACUNAS LIOFILIZADAS DE APLICACIÓN VIA SPRAY**

Corresponde a este grupo la vacuna contra las enfermedades de Newcastle, Bronquitis Infecciosa y Pneumovirus Aviar. Las principales pautas a tener en cuenta de manera general son las siguientes:

- Mantener los frascos vacunales en refrigeración (+2 a +8°C). Nunca congelar.
- No exponer de manera prolongada ni directa a los rayos solares.
- Se aplican por aspersión con máquina automática.
- Se combina con agua destilada.
- También se puede aplicar vía ocular con diluyente especial para este medio.

### **1.3 EN SUSPENSIÓN**

Corresponde a este grupo la vacuna contra la enfermedad de la coccidiosis aviar. Las principales pautas a tener en cuenta de manera general son las siguientes:

- Los oocistos vacunales se encuentran en suspensión en un medio líquido dentro de frascos de vacuna
- Mantener los frascos vacunales en refrigeración (+2 a +8°C). Nunca congelar.
- No exponer de manera prolongada ni directa a los rayos solares.
- Se puede aplicar por aspersion con máquina automática a razón de 21 a 25 ml por caja de 100 aves.
- Se combina con agua destilada.
- Es necesario mezclar con tinte marcador con el fin de estimular el picaje de los residuos de vacuna presente en el plumaje de los pollitos BB hermanos. En el caso de las máquinas automáticas que no cuentan con agitadores magnéticos es necesario combinar con glicerina farmacéutica a razón de 5% de la solución vacunal con el fin de mantener los oocistos en suspensión.
- También se puede aplicar vía ocular con diluyente especial para este medio.

## **2.0 INACTIVADAS**

También conocidas como vacunas oleosas, corresponden a este grupo las vacunas contra las enfermedades de Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Hepatitis a Cuerpo de Inclusión entre otras.

Las vacunas inactivadas tienen un tipo de emulsión agua/aceite (W/O) y están constituidas por 2 fases:

- Fase Oleosa: 80%
- Fase Acuosa: 20 %

La fase Oleosa generalmente está constituida por Oleo Mineral–Marcol 52 y Arlacel 80. La Fase Acuosa presenta una serie de microburbujas que contienen a los antígenos presentes en la solución vacunal.

Durante la agitación del frasco las microburbujas de la fase acuosa son recubiertas por una microemulsión procedente de la fase oleosa, este complejo permite la absorción lenta del antígeno vacunal y desencadena toda la respuesta inmunológica del ave.

La gran mayoría de vacunas oleosas utilizan formalina como medio inactivador del antígeno pero algunas vacunas emplean Binary Etthylen Imina (BEI), este agente inactivador a diferencia de las formalinas actúa sobre la envoltura viral, el BEI actúa sobre la capacidad de replicación del ácido nucleico del virus, es decir, no daña su fracción antigénica, adquiere mayor potencia y por lo tanto logra una mejor inducción de la inmunidad.

En términos generales debemos de tener en cuenta las siguientes consideraciones de manejo:

### **Conservar en refrigeración a un rango de temperatura entre +2 °C a +8 °C.**

La temperatura de conservación tiene que tener mínimas variaciones térmicas, el rango óptimo de conservación es de +4°C a +6°C.

### **Nunca congelar.**

La variación de temperatura por debajo del rango recomendado afecta y altera la estabilidad de la emulsión del producto, pudiéndose producir separación irreversible de las fases oleosa y líquida.

### **Transportarlas en recipientes adecuados.**

El traslado se debe realizar en cajas térmicas que aseguren mantener la temperatura dentro de los rangos especificados. Se pueden emplear preservantes térmicos o cold pack en volúmenes adecuados dependiendo del tamaño de la caja térmica, cantidad de frascos liofilizados a trasladar y el tiempo que durará el traslado, generalmente los preservantes tienen un tiempo de duración de 24 horas.

### **Temperatura de administración de la vacuna.**

Durante la aplicación de la vacuna, con la finalidad de evitar un shock térmico en el pollito BB se recomienda que previa a la vacunación o administración la vacuna se encuentre entre 20°C y 30°C, lo ideal es que la vacuna alcance la temperatura del ave (aprox. 38°C). para esto y dependiendo de las condiciones ambientales térmicas retirar los frascos de la cámara de refrigeración entre 12 a 24 horas antes de la vacunación.

### **Vías de Administración.**

Se aplican por inyección subcutánea a nivel del tercio medio de la región dorsal del cuello, ya sea por máquinas automáticas o jeringas manuales. La dosis a aplicar generalmente es de 0.1 ml.

## **TECNICAS DE VACUNACION**

### **APLICACIÓN SPRAY**

Algunas vacunas liofilizadas (ND, IB, APV) y las vacunas en suspensión (Coccidiosis) se administran por vía spray, generalmente por medio de máquinas de gabinetes diseñados para que ingrese dentro de ella una caja conteniendo 100 pollos, la cual presiona un sensor mecánico que activa el sistema neumático de aspersión. En algunos casos y siempre y cuando no sea factible acceder a las máquinas de gabinetes se pueden emplear equipos portátiles de vacunación spray.

La vacunación vía Spray debe ser hecha con un tamaño de gota gruesa y se recomienda trabajar con máquinas de 4 boquillas que permitan asperjar un mayor volumen de solución vacunal. Se logra una mejor uniformidad de vacunación considerando volúmenes de vacuna de 20 ml / caja (5 ml / boquilla).

A continuación se detalla las variaciones de tamaño de gota que se puede obtener dependiendo del tipo de boquilla a usar y de la presión de aire al ingreso de la máquina así como de la vacuna al momento de pasar por la boquilla.

<b>Boquilla</b>	<b>Presión de Aire en bars (psi)</b>	<b>Presión de la Vacuna en bars (psi)</b>	<b>Tamaño de gota en micrones</b>
<b>Boquilla Naranja</b>	4 (57)	0.7 (10)	325
	5 (71)	1.0 (14)	290
	6 (86)	1.4 (20)	270
<b>Boquilla Gris</b>	4 (57)	1.7 (24)	190
	5 (71)	2.2 (31)	168
	6 (86)	2.9 (41)	158
<b>Boquilla Roja</b>	4 (57)	2.0 (29)	153
	5 (71)	2.7 (39)	147
	6 (86)	3.2 (46)	137

Aspersión con agua a 20°C usando la máquina de 4 boquillas HATCH SPRAY (CEVA SANTE ANIMALE).

Los pasos del manejo de la máquina en spray se describen a continuación:

- Antes de empezar a usar la máquina verificar que la presión de aire se encuentre dentro de los parámetros establecidos por la empresa proveedora.
- Verificar que las tuberías estén bien conectadas.
- Dejar fluir agua destilada por las tuberías y calibrar las boquillas de acuerdo a las indicaciones de la empresa proveedora. En procesos que toman más de 6 horas de trabajo calibrar 2 veces por proceso.
- Se recomienda trabajar con máquinas de 4 boquillas (una para cada cuadrante) bajo un volumen total de aspersión de 20 ml por caja (5 ml por boquilla).
- A mayor volumen de aspersión mejor uniformidad de vacunación.
- La caja de pollos debe permanecer dentro del gabinete de la máquina por lo menos 2 segundos después de activado el sistema a fin de asegurar que todos los pollos inhalen la vacuna correctamente y se logre una vacunación uniforme.
- La vacunación vía spray asegura las tres vías de vacunación:
  - o Nasal: Por inhalación de la solución vacunal al momento de la aspersión.
  - o Ocular: Por contacto directo de la vacuna con la mucosa acular durante la aspersión.
  - o Oral: Por picaje del residuo de las gotas vacunales formadas en el plumaje de los pollitos BB hermanos.
- La solución vacunal preparada debe ser utilizada en un tiempo máximo de 1 hora.
- Al terminar la vacunación eliminar la solución vacunal sobrante y enjuagar con agua destilada para proceder a la desinfección.
- Desinfectar las tuberías, jeringa y boquillas de la máquina con alcohol medicinal. Colocar el alcohol en el frasco de vacuna y luego hacer funcionar la máquina para que fluya el desinfectante por las tuberías.
- Esterilizar a calor húmedo o seco sólo los accesorios que puedan ser sometidos a esta operación sin que se altere su estructura básica.

## **APLICACIÓN VIA INYECTABLE**

Algunas vacunas liofilizadas (IBD, MD, FP), las vacunas congeladas (MD, IBD) y las vacunas inactivadas (ND, IB, HCl) se administran por vía inyectable por medio de máquinas automáticas diseñadas para que se coloquen a los pollitos BB uno por uno, el ave una vez colocado a nivel de la placa de la máquina presiona un sensor mecánico que activa el sistema neumático de salida de la aguja e inyección de la vacuna. En algunos casos y siempre y cuando no sea factible acceder a las máquinas automáticas se pueden emplear equipos o jeringas manuales para vacunación inyectable.

Dependiendo del tipo de vacuna a emplear la dosificación puede ser de 0.1 ml para el caso de las vacunas inactivadas ó 0.2 ml para el caso de las vacunas congeladas y/o liofilizadas. La velocidad de vacunación depende del tipo de sistema empleado, en el caso de las jeringas manuales puede variar entre 1000 a 1500 aves / hora / vacunador y en el caso de las máquinas automáticas puede variar entre 2500 a 3000 aves / hora / vacunador.



Los pasos del manejo de la máquina automática inyectable se describen a continuación:

- Antes de empezar a usar la máquina verificar que la presión de aire se encuentre dentro de los parámetros establecidos por la empresa proveedora.
- Verificar que todas las tuberías estén bien conectadas de lo contrario podría ingresar aire al sistema pudiendo haber pollitos sin vacuna, también se podría observar goteo constante o pérdida de la solución vacunal en el punto de la mala conexión.
- Dejar fluir agua destilada por las tuberías para calibrar la jeringa de acuerdo a la dosificación de la vacuna a emplear y siguiendo las indicaciones del laboratorio proveedor. En procesos que toman más de 6 horas de trabajo calibrar 2 veces por proceso.
- Una vez que el pollito activa el sistema de inyección, a fin de asegurar que toda la vacuna ingrese dentro del ave, se debe de esperar unas milésimas de segundo antes de retirarlo de la placa.
- Normalmente las agujas deben ingresar a nivel del tercio medio de la región dorsal del cuello y la vacuna se debe depositar a nivel subcutáneo de la región cervico dorsal, en algunos casos y generalmente en las vacunas líquidas (MD, IBD) la solución por la presión de inyección puede observarse en la región cervico ventral, esto no tiene ningún impacto negativo en el ave siempre y cuando el punto de entrada de las agujas haya sido en el lugar adecuado.
- La solución vacunal preparada debe ser utilizada de acuerdo a las indicaciones del laboratorio proveedor del producto biológico.
- Al terminar la vacunación eliminar la solución vacunal sobrante y enjuagar con agua destilada para proceder a la desinfección.
- Desinfectar las tuberías, jeringa y accesorios de la máquina con alcohol medicinal. Colocar el alcohol en un frasco y luego hacer funcionar la máquina para que fluya el desinfectante por las tuberías.
- Esterilizar a calor húmedo o seco sólo los accesorios que puedan ser sometidos a esta operación sin que se altere su estructura básica.