



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales Creative Commons, permitiendo a otras solo descargar sus obras y compartirlas con otras siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de forma comercial.

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

Universidad San Luis Gonzaga de Ica
Facultad de Medicina Veterinaria
BIBLIOTECA

**Universidad Nacional
San Luis Gonzaga de Ica**

Programa Académico de Medicina Veterinaria

**Respuestas Inmunológicas de los
Diferentes Títulos Hemaglutinantes
del Virus Vacunal Sota en Pollos Broillier**

TESIS

Presentada por el Bachiller:

Daniel Augusto Jesús Neyra Bernaola

Para optar el Título de Médico Veterinario

Promoción 1971 César Vallejo

Ica - Perú

1974



Universidad San José Gonzaga de Ica
Facultad de Medicina Veterinaria
BIBLIOTECA

A MIS TIAS

Rosa Bernaola T.

Luz Bernaola M.

Consuelo Bernaola P.

María L. Bernaola P.

Mi eterna gratitud al
Señor Guillermo Lios
Erquicia

Mi agradecimiento
a los Doctores Ma
nolo Fernández Díaz
Luis Saona Black

C O N T E N I D O

- I. INTRODUCCION
- II. REVISION BIBLIOGRAFICA
- III. MATERIAL Y METODOS
- IV. RESULTADOS
- V. DISCUSION
- VI. CONCLUSIONES
- VII. MATERIAL BIBLIOGRAFICO

I. INTRODUCCION

Paralelamente al desarrollo de la Avicultura han surgido una serie de problemas que hasta el momento no tienen una explicación fundamentada, es así el caso de la enfermedad de Newcastle, que ha alcanzado nuestro País características de una verdadera epizootia con modificaciones en el aspecto clínico, anátomo-patológico, inmunológico y epizootiológico, lo que viene a desconcertar al personal dedicado a esta especialidad.(8)

La profilaxia de la enfermedad por la vacunación que se realiza en nuestro medio con vacunas nacionales y extranjeras, ha ocasionado resultados contradictorios, desorientando al profesional y al avicultor, ya que muchos accidentes post-vacunales imputados a las vacunas serían posiblemente debidos a factores adversos como calor, mala alimentación, problemas sanitarios, en general un manejo inadecuado.

En nuestro País se viene utilizando como rutina la apreciación de la capacidad antigénica de la vacuna por apreciación directa de su título hemaglutinante o bien por la inoculación de embriones de pollo en diluciones seriadas para igualmente apreciar el punto final por hemaglutinación.

El título hemaglutinante de las vacunas aparentemente no constituye una base para la valoración de la capacidad antigénica.

Realizamos el presente trabajo considerando ratificar o rectificar un procedimiento de valoración antigénica de enorme trascendencia para la economía pecuaria del País.

Universidad San Luis Gonzaga de Ica
Facultad de Medicina Veterinaria
BIBLIOTECA

El presente trabajo se desarrolló en el Departamento de Patología Aviar y Granja Experimental del Programa Académico de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica, bajo la dirección del Dr Manolo Fernández Díaz y la colaboración del Dr Luis Saona Black, Jefe del Departamento de Ciencias Biológicas de la referida Universidad.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

La enfermedad de Newcastle (Pseudo-Peste de las aves, pseudo peste de los gallineros, moquillo aviario, encefalitis aviaria, enfermedad de ranikhet), es una enfermedad de los pájaros adquirida a veces por el hombre a consecuencia del contacto con aves infectadas. Los huéspedes naturales incluyen aves domésticas tales como pollos, gallinas, pavos, loros y animales salvajes como gorriones y palomas.

Los virus de Newcastle son partículas esferoidales con un diámetro de 150 a 250 nm. Por sus características físico-químicas están en el grupo paramixovirus. Es un virus de simetría helicoidal de tipo RNA y con envoltura lipoproteica de la cual emergen numerosas proyecciones (hemaglutininas).

La enzima neuraminidasa o enzima destructora del receptor (RDE) destruye la actividad del receptor para los mixovirus y paramixovirus en los hematíes y células huéspedes susceptibles.

La hemaglutinación es causada por la unión de sitios específicos de los virus con receptores de la membrana celular de los hematíes.

En los virus intactos los antígenos localizados en la superficie participan en la precipitación, fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación y neutraliza-

ción.

Por las características físico-químicas del virus de Newcastle el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos prescribe normas para evaluar la potencia de una vacuna elaborada con virus vivo contra la enfermedad de Newcastle. Los métodos a emplear son:

1. Contenido de virus: Usando embrión de pollo.
2. Capacidad inmunizante: Prueba en aves.

La administración de la vacuna da lugar a una fuerte multiplicación del virus en el cuerpo del animal, el cual a su vez induce la producción de anticuerpos.

El virus vacunal al ser administrado penetra en primer lugar en las células de la piel o de la mucosa donde se produce la primera multiplicación e inmediatamente pasa a la sangre (viremia primaria); estando el virus en la vía linfática o la sangre se dirige a los órganos que tiene afinidad primaria como pulmones en donde se produce una segunda multiplicación del virus pasando de allí nuevamente a la sangre (viremia secundaria).

La diferencia del efecto clínico entre un virus a patógeno y un virus patógeno es que este último cursa con una generalización después de la viremia secundaria.

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos fija tenores mínimos del orden de 10^5 dosis infecciosas letales-50 por mililitro de vacuna reconstituída (10^5 DIL₅₀

x ml. de vacuna) que equivale a 3,000 dosis infecciosas letales 50 x dosis ave, omitiéndose referirse a la cepa vacunal a emplearse.

En cuanto a la cepa La Sota las informaciones son mucho más vagas que a la cepa B₁ por tratarse de una variante más patógena. A pesar de ello se recomiendan dosis que contengan no menos de 100,000 a 500,000 partículas infecciosas letales 50 x dosis ave con su equivalente de $10^{6.53}$ a $10^{7.22}$ dosis infecciosas letales por mililitro.

III. MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se desarrolló empleándose las técnicas de CONNINGAN 1973. Empleándose 270 pollitos BB para carne vacunados contra la enfermedad de Marek los que se dividieron en 9 grupos de 30 c/u criándose bajo condiciones sanitarias estrictas; tales aves fueron alimentadas con dietas comerciales no administrándoles ningún tipo de antibiótico en toda la etapa de su vida, excepto leche en el agua de bebida (8%) y bicarbonato de sodio (2%) cada 20 días.

MATERIALES

1. Reactivos biológicos y químicos.
 - a. Virus del Newcastle GB-Texas
 - b. Virus del Newcastle vacunal Sota
 - c. Suero anti-Newcastle
 - d. Glóbulos rojos lavados
 - e. Suero fisiológico.
2. Equipo y materiales
 - a. Placas excavadas plastiglass
 - b. Pipetas serológicas 1/100
 - c. Tubos de prueba.

METODOS

1. Titulación de anticuerpos contra Newcastle por inhibición

- de hemaglutinación a los 10 y 45 días de edad en 15 animales de cada grupo.
2. Titulación de las vacunas contra Newcastle cepa La Sota por hemaglutinación directa.
 3. Obtención de títulos hemaglutinantes supuestos de 1:5 a 1:2,560 por diluciones seriadas del virus empleado (1 : 640).
 4. Vacunación vía intranasal a las 7 semanas de edad de los 8 grupos de animales con distintos supuestos títulos hemaglutinantes del virus de Newcastle cepa La Sota.
 5. Titulación de anticuerpos contra Newcastle de los animales vacunados por inhibición de la hemaglutinación a los 7, 15 y 21 días de vacunados.
 6. Prueba de confrontación por inoculación intranasal del virus de Newcastle cepa GB-Texas DI.5,000 DL.50 x 0.5 ml. a todos los grupos de animales.

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 1

Test de Inhibición de la Hemaglutinación (IHA) en pollitos de 10 días de edad sin vacunar.

<u>N° de Sueros</u>	<u>Título I.H.A.</u>
122	1/160
10	1/320
3	1/640

CUADRO N° 2

Test de Inhibición de la Hemaglutinación (IHA) en pollos de 45 días de edad sin vacunar.

<u>N° de Sueros</u>	<u>Título I.H.A.</u>
115	Negativos
20	1/5

CUADRO N° 3

Títulos de I.H.A. (V.C.S.D) en pollos de 56 días de edad, 7 días luego de la vacunación:

Grupos	Supuestos títulos hemaglutinantes de la vacuna	Neg.	1/5	1/10	1/20
1	1/5	-	6	9	-
2	1/20	-	9	6	-

Grupos	Supuestos títulos hemaglutinantes de la vacuna	Neg.	1/5	1/10	1/20
3	1/80	-	6	8	1
4	1/160	-	7	8	-
5	1/320	-	9	5	1
6	1/640	-	9	5	1
7	1/1,280	-	11	4	-
8	1/2,560	-	9	6	-
Control	-	14	1	-	-

CUADRO N° 4

Títulos de I.H.A. (V.C-S.D.) en pollos de 64 días de edad, 15 días luego de la vacunación.

Grupos	Supuestos títulos hemaglutinantes de la vacuna	Neg.	1/5	1/40	1/80	1/160	1/320	$\frac{1}{640}$
1	1/5	-	-	6	4	5	-	-
2	1/20	-	-	4	3	5	2	-
3	1/80	-	-	6	3	5	1	-
4	1/160	-	-	7	4	3	-	1
5	1/320	-	-	6	5	3	1	-
6	1/640	-	-	6	4	3	2	-
7	1/1,280	-	-	5	3	4	3	-
8	1/2,560	-	-	7	2	4	2	-
Control	-	12	3	-	-	-	-	-

CUADRO N° 5

Títulos de I.H.A. (V.C-S.C) en pollos de 70 días de edad, 21 días después de la vacunación.

Grupos	Supuestos títulos hemaglutinantes de la vacuna	Neg.	1/5	1/80	1/160	1/320	$\frac{1}{640}$
1	1/5	-	-	6	5	3	1
2	1/20	-	-	2	6	6	1
3	1/80	-	-	2	8	5	-
4	1/160	-	-	4	6	5	-
5	1/320	-	-	3	7	4	1
6	1/640	-	-	3	6	6	-
7	1/1,280	-	-	2	5	8	-
8	1/2,560	-	-	2	7	5	1
Control	-	12	3	-	-	-	-

CUADRO N° 6

Prueba de confrontación empleando la cepa GB-Texas a los 21 días luego de administrado la vacuna (DL = 5,000 DL₅₀ x 0.5 ml.) intranasal.

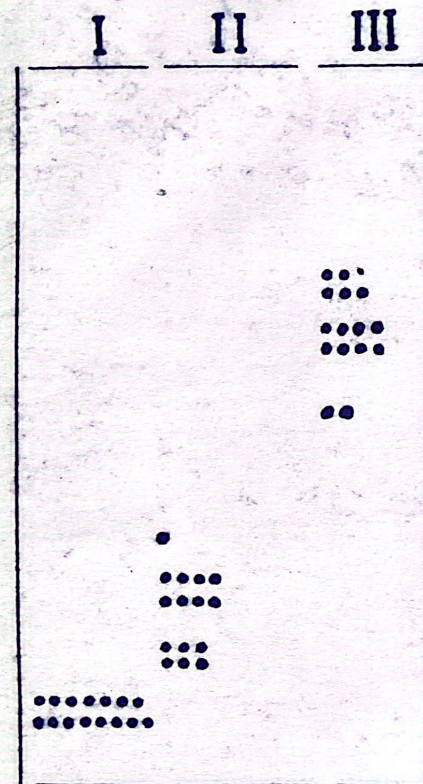
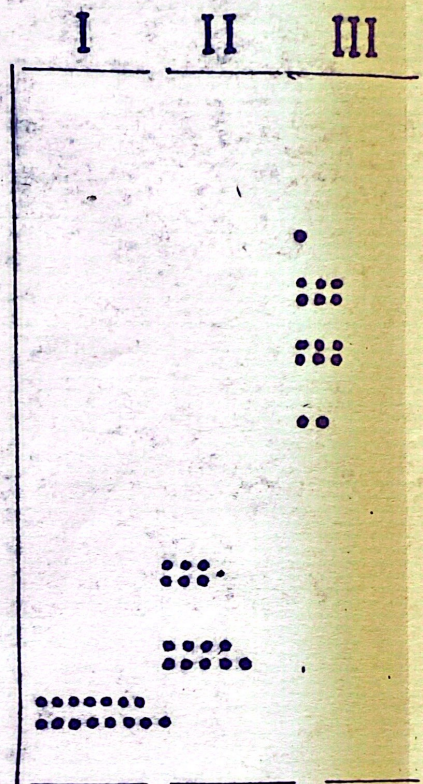
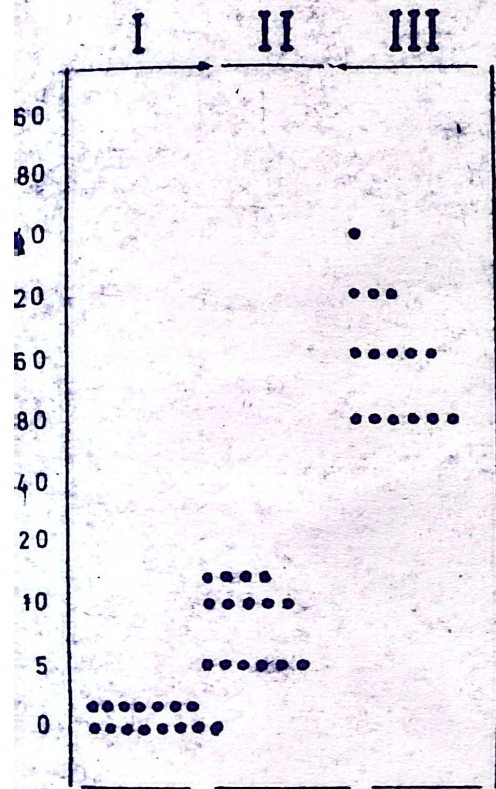
En Porcentajes

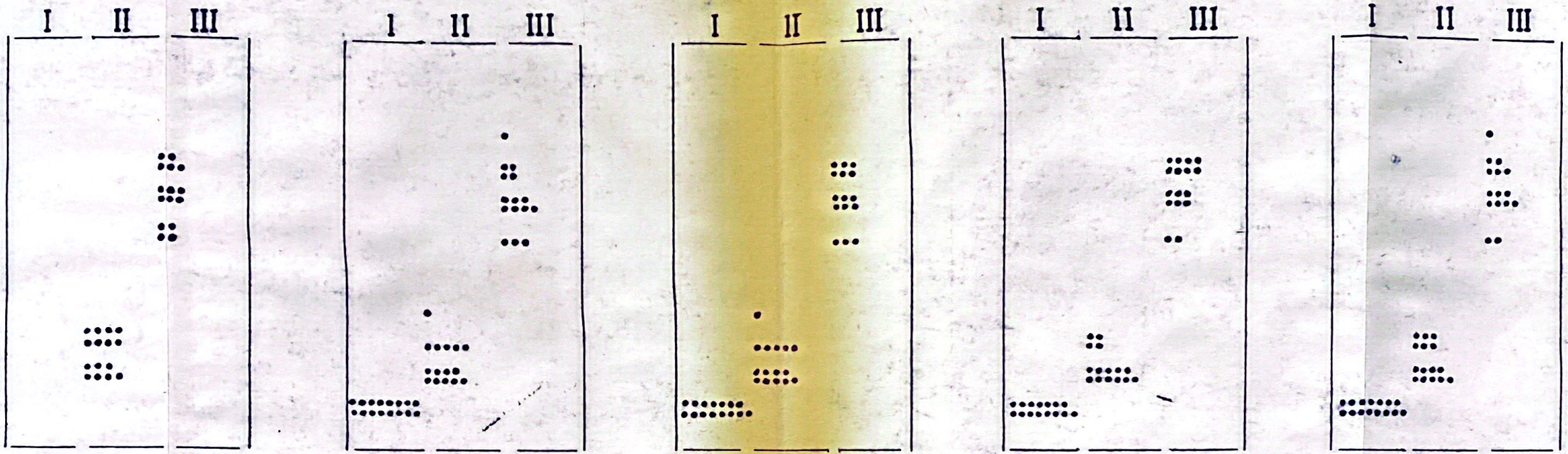
Grupos	Supuestos títulos hemaglutinantes de la vacuna	Mor- tali- dad	Sig- ^o nos Resi- rato- rios	Sig- ^{oo} nos Diges- tivos	Sig- ^{ooo} nos Ner- vio- sos
1	1/5	-	25%	15%	-
2	1/20	0.3%	10%	15%	-
3	1/80	-	10%	15%	-
4	1/160	0.6%	20%	15%	1%
5	1/320	-	15%	10%	-
6	1/640	-	20%	15%	-
7	1/1,280	1%	10%	15%	4%
8	1/2,560	-	10%	15%	-
Control	-	18%	100%	100%	25%

o : Ronquera - Estornudos

oo : Diarrea - Verdosa

ooo : Incoordinación - Opistótonos





Respuestas de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinacion en
 aves vacunadas con distintos titulos hemaglutinantes de una va
 cuna de virus de Newcastle cepa La Sota. Cada simbolo represen
 ta un ave. I= suero pre-vacunal ;
 II = suero a los 7 días de vacunados;
 III = suero a los 21 días de vacunados.

V. DISCUSION

De los resultados observados en el Gráfico N° 1 puede inferir que ha habido respuestas primarias pobres días después de la vacunación obteniéndose títulos máximos de 1:20 de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación.

A los 15 días de la vacunación se observaron reacciones de hasta 1:640, lo que indica una notable alza en títulos de anticuerpos aunque sólo en escasos animales.

A los 21 días de vacunados se observa que los títulos de anticuerpos específicos no pasan de la dilución 1:640 aunque ahora en un número de animales discretamente mayor.

Evidentemente un título de inhibición de hemaglutinación de 1:640 nos parece pobre más aún si se observa lo 5 de 135 animales luego de 21 días de vacunados.

El empleo de una vacuna con un supuesto título maglutinante elevado mayor de 1:640 por ejemplo, aparentemente no nos ha mostrado una correspondiente respuesta inmunológica mayor traducida a un mayor título de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación.

El hecho de que partículas virales (viriones) inactivados mantengan su propiedad hemaglutinante sería suficiente para poner en duda la obtención de una mayor res-

puesta inmunológica en relación a un mayor título hemaglutinante del agente antigénico. Efectivamente está demostrado que viriones del Newcastle inactivados por medio de agentes químicos continúan aglutinando glóbulos rojos. Si bien este no es el caso de las vacunas contra el Newcastle de uso común existen varios factores físicos como temperatura, humedad y diversos cuerpos extraños que definitivamente influyen en la infectividad del virus vivo y en consecuencia la capacidad inmunogénica. De comprobada importancia lo es también el pH del medio.

Las vacunas contra el Newcastle bienen en estado de liofilización. La liofilización es un procedimiento de conservación por desecación a alto vacío y que se consigue por una congelación rápida del producto biológico seguida por un proceso de sublimación en el cual las moléculas de agua pasan del estado sólido al gaseoso el producto final debe ser un polvo totalmente desprovisto de agua y que estará ávido de agua, razón por la cual se debe disolver instantáneamente al tener un reencuentro con el agua del diluyente. El pH del diluyente puede tener influencia en la proteína estructural del virión.

Nuestros resultados muestran por un lado una baja respuesta inmunitaria y por otro lado que no existe una correspondencia notable o notoria entre títulos hemaglutinantes de la vacuna y nivel de anticuerpos alcanzado. Sería sin

embargo lógico esperar una mayor respuesta inmunológica en correspondencia a un mayor título hemaglutinante si se supiese que el título de virus activo se mantiene a niveles mínimos requeridos para garantizar un buen efecto inmunitario. El conocimiento de la mecánica de la infección intracelular de los virus con envoltura lipoproteica provistas de proyecciones hemaglutinantes como el de Newcastle induce irresistiblemente a pensar en la importancia de que el agente inmunológico (vacunas) contengan títulos suficientes de partículas virales activas. El conocimiento de la hemaglutinación persistente en partículas inactivadas nos tienta a pensar de la ineffectividad de tal procedimiento como único criterio para medir el valor inmunitario de la vacuna contra el Newcastle. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos descuenta de hecho la prueba de la hemaglutinación directa como un medio para valorar el poder inmunogénico de las vacunas contra el Newcastle y recomienda la previa inoculación del virus en embriones de pollo para apreciar así el título de virus activos demostrados por hemaglutinación, mientras no se realicen trabajos tendientes a demostrar que las vacunas de uso común contienen altos títulos de virus activos es probable que los problemas de la enfermedad de Newcastle persistan.

Por otro lado no solamente son los virus inactivos provistos de hemaglutinina los causantes de una reacción

de hemaglutinación positiva sino que microorganismos contaminantes de las mismas vacunas podrían también ser los responsables como por ejemplo los micoplasmas. En tanto no se realicen estudios sistemáticos tendientes a demostrar lo contrario no se puede negar en la posibilidad, a más de peligro intrínseco de la transmisión de otras enfermedades a través de la misma vacuna.

De los resultados obtenidos de la prueba de confrontación se podrá deducir que no hay una correspondencia entre porcentaje de mortalidad y sintomatología clínica contra el título hemaglutinante de la vacuna empleada (°).

Los porcentajes de mortalidad obtenidos son en todo caso no significativos. Se pudiera haber esperado mayor porcentaje de mortalidad en los animales vacunados con títulos más bajos (diluciones más altas) lo cual no ha sucedido. En relación a la sintomatología clínica se aprecia aún menos diferencias prescindiendo del título hemaglutinante de la vacuna empleada.

(°) cepa GB-Texas $DI = 5,000 DL_{50} \times 0.5 \text{ ml.}$

VI. CONCLUSIONES

1. Que la prueba de hemaglutinación directa para titular una vacuna de Newcastle a virus atenuado no es recomendable para valorar su potencia inmunogénica. Por cuanto es una expresión de la presencia de hemaglutininas tanto en partículas virales activas como inactivas.
2. Que no existe relación entre el título hemaglutinante de la vacuna de Newcastle y la producción de anticuerpos protectores contra la enfermedad.
3. Que para valorar la potencia inmunogénica de una vacuna de Newcastle sería recomendable la titulación de partículas virales activas o la prueba de confrontación.

VII. MATERIAL BIBLIOGRAFICO

1. Barret (1972), Inmunología.- Editorial Interamericana-México.
2. Biester y Schwarte (1964).- Enfermedades de las aves, Págs 471-510.- Edit. Uteha-México.
3. C. H. Cunningham (1971).- Virología Práctica 6ta Edición Edit. Acirbia.- España.
4. Cushing-Campbell (1960), Principios de Inmunología.-Págs 237-397.- Edit. Acribia.- España.
5. Davis B.D.R. Dubecco y otros (1972), Tratado de Microbiología.- Capítulo Virología.- Edit. Salvat.- España.
6. Hanson, R. P. y C. A. Bradly (1958) Newcastle-Disease Ann. N. Y. Head Sei 70: 585-597 - Burrowg. (1971) página 873.
7. Levine, P. P. & Fabricant, J. (1950).- Susceptibility to Newcastle infection of chicks congenital serum antibodies.- Cornell Vet. 40 (2): 213.
8. Manolo Fernández (1973) variaciones Histológicas en Timo-Bazo bolsa de Fabrizzio en aves afectadas con erosión de molleja y su relación con la enfermedad de Newcastle- Programa Académico de Medicina Veterinaria.- Chincha-Perú.

9. Manual Merck de Veterinaria (1970).- Primera Edición.- Pág. 863 Edit. Merck. E. U. A.
10. Milton Marques S. y Wilhelm Brada (1968) Contribución al estudio de la Inmunidad Congénita en pollitos contra la enfermedad de Newcastle. Pesq. Agrop. Brasil.3: 319-324.
11. N.S. Herbert (1971).- Inmunología Veterinaria, Pág.200-204. Edit. Acribia.- España.
12. P. Seneviratna (1971).- Enfermedades de las Aves.- Pág 37-46.- 2da Edición.- Edit. Académica S. L. España.
13. Silva, R. A. da, Wilson, M. R. Silva M. M. y otros(1961). El diagnóstico de la enfermedad de Newcastle por el test. de inhibición de hemaglutinación.- Arq. Inst. Biol. Anim.; Río de Janeiro, 4: 105-108.
14. Schmittle, S. C. y Millen T. W. (1948).- Detección de anticuerpos inhibidores de H.A. Carmell Vet. 38:306-309.
15. Wilhelm Brada y Milton Marques S. (1968). Observaciones realizadas sobre la enfermedad de Newcastle durante trabajos de diagnóstico.- Pesq. Agrop. Brasil 3 : 319-324.