

# DESARROLLO Y EVALUACION DE UNA VACUNA INACTIVADA EN ADYUVANTE OLEOSO CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEW CASTLE \* \*\*\*

Helia R. de Cardona DMVZ \*\*  
Oscar Robin DMV  
Luis Guillermo Parra DMVZ

## RESUMEN

Se formularon 43 vacunas oleosas contra la Enfermedad de Newcastle, a diferentes concentraciones de antígeno, y se escogieron 6, las cuales demostraron estabilidad prolongada para ser sometidas a pruebas de inocuidad e inmunogenicidad.

A nivel de laboratorio se trabajaron la vacuna No. 1 (10% de concentración de antígeno), vacunas No. 16 (10%), 17 (5%), 18 (1%), en pruebas de potencia con aplicación de dosis única, obteniendo muy buenos resultados a la descarga. También se trabajó con la vacuna No. 30 (10%) en un ensayo en animales previamente vacunados con vacunas vivas, con resultados satisfactorios. A pruebas de descarga con aplicación de la vacuna No. 31 (10%), se hizo seguimiento serológico en pollos durante 6 meses por la prueba IHA.

En condiciones de campo se vacunaron ponedoras en 3 granjas diferentes, con vacuna oleosa (10% de concentración de antígeno) para un total de 10.200 aves. No

fue necesario recurrir a tratamiento porque no se observaron reacciones post-vacunales y los resultados en cuanto a comportamiento inmunogénico fueron plenamente satisfactorios, comprobados por descarga en grupos de animales procedentes de cada granja.

## INTRODUCCION

Ampliamente conocido es el problema que constituye para la industria avícola del país, la enfermedad de Newcastle, y las inmensas pérdidas económicas que ocasiona.

Estudios sobre nuevos y más confiables inmunógenos se han adelantado, para llegar a conclusiones alentadoras con la utilización de vacunas inactivadas y emulsificadas, en cuanto a su comportamiento inmunogénico (1,3,4). Este tipo de vacunas estimula una producción de anticuerpos más sostenida y durante un largo período de tiempo (2,4,5) sin presentar los problemas de fuertes reacciones post-vacunales, lo cual las hace ideales para su aplicación principalmente en ponedoras al comienzo de su vida productiva.

## MATERIALES Y METODOS

1. Obtención de semillas con cepa de virus de Newcastle - La Sota Clon seleccionado, por Inoculación de embriones S. P. F. vía cámara alantoldeia.

Proyecto Cooperativo Universidad Nacional - Empresa Colombiana de Productos Veterinarios VECOL S.A.

Respectivamente: Profesor Asociado - Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia U. N.. Director Departamento de Biológicos - VECOL.. Director Científico VECOL.

Trabajo presentado al XIV Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y de Zootecnia - Cartagena 1984 Octubre.

2. Obtención de cosechas en forma similar y determinación de títulos infectantes en embrión.

3. Inactivación

Para algunas formulaciones se utilizó cosecha de virus inactivado con formol en concentración del 0.2%; para otras B-propiolactona en la misma concentración.

4. Formulaciones

Se formularon 43 vacunas oleosas con diferentes concentraciones de antígeno, variaciones en la proporción de fase acuosa y oleosa y diferentes aceites y emulsificantes. (Cuadro No. 1).

Se sometieron todas a controles físico-químicos para determinar estabilidad de la emulsión, viscosidad y demás propiedades. (Cuadro No. 4). Fueron escogidas para someterlas a controles de eficacia las siguientes: No. 1, 16, 17, 18, 30, 31.

5. Controles

5.1. Esterilidad partiendo de la emulsión completa o utilizando la técnica de ruptura de la emulsión por adición previa de Tween 80 al 20% y posterior siembra en medios de cultivo para aerobios, anaerobios y hongos.

**CUADRO No. 1  
FORMULACION DE VACUNAS EXPERIMENTALES**

Vacuna No.	Tersol %	Montanide %	Fase Oleosa	Fase %	Antígeno Acuosa	Fase %	Ariacel %	Marcol %	Tween 80 ml 20%	Volúmen Total ml	HLB
1	95	5	50	10	50	—	—	—	—	500	—
16	95	5	50	10	50	—	—	—	—	500	—
17	95	5	50	5	50	—	—	—	—	500	5.0
18	95	5	50	1	50	—	—	—	—	500	5.0
30	—	—	70	10	30	10	90	15	15	500	4.0
31	—	—	70	10	30	10	90	15	15	500	4.0

**CUADRO No. 2  
PRUEBAS DE INOCUIDAD**

Vacuna No.	No. de Animales	Edad días	Vía	Dosis 2ml	Dosis 0.5 ml	Observacio- nes Días
1	20	14	IM	10	10	20
16	20	14	IM	10	10	20
	20	14	SBC	10	10	20
17	20	14	SBC	10	10	20
	20	14	SBC	10	10	20
18	20	14	IM	10	10	20
	20	14	SBC	10	10	20
30	20	14	IM	10	10	20
	20	14	SBC	10	10	20
31	20	14	IM	10	10	—

CUADRO No. 3  
 PRUEBAS DE POTENCIA

VACUNACION										DESCARGA			
Vacuna	Dosis	Vía	No. de Animales	Edad días	IHA Previa	Días Post-Descarga	Dosis Vac.	No. de Animales	Mortalidad	Control Vac.	Protección Vacunación		
No.	ml.												
1 10%	0.5 0.5	IM SBC	25 25	14 14	X 1:10	30	10.000 DI 50	25 25	6		100%		100%
16 10%	0.5 0.5	IM SBC	30 30	30 30	X 1:57.3	60	10.000 DI 50	30 30	15		100%		100%
17 5%	0.5 0.5	IM SBC	30 30	30 30	X 1:32	60	10.000 DI 50	30 30	15		100%		100% 90%
18 1%	0.5 0.5	IM SBC	30 30	30 30	X 1:10.8 X 1:10.8	60 60	10.000 DI 50	30 30	15		100%		100%
Cepa F	Gota	OC Nasal	60	14									
La Sota	Gota	OC Nasal	60	44									
30 10%	0.5	IM	60	134 19sem	X 1:64	60	10.000 DI 50	60	10		100%		97%

CUADRO No. 4

CONTROL DE ESTABILIDAD DE EMULSIONES A DIFERENTES TEMPERATURAS

Vacuna	37°C							To. Ambiente							4°C						
	No.	7	14	21	28	35	42	7	14	21	28	35	42	7	14	21	28	35	42		
1																					
16																					
17																					
18																					
30																					
31																					

+ Emulsiones Rotas  
 - Emulsiones Estables

**5.2. Inocuidad en pollos de 14 días de edad (Cuadro No. 2) con aplicación de dosis simple (0.5 ml) y 4 veces la dosis (2 ml) por vía Intra-muscular y subcutánea.**

**5.3. Eficacia**

**5.3.1. En condiciones de laboratorio**

**5.3.1.1. Vacunación dosis única con vacuna No. 1: (10% de antígeno) 50 pollos susceptibles de 14 días de edad.**

Dosis: 0.5 ml. vía Intramuscular y subcutánea.

Período de Inmunización: 30 días.

Títulos de IHA: Previos a la descarga 1:10

Descarga: Newcastle cepa O.R. Chía 10.000 DIE50 vía I.M.

Observación: 30 días

Lectura: (Cuadro No. 3)

**5.3.1.2. Vacunación con formulaciones experimentales a diferente concentración de antígeno.**

**Vacuna No. 18 (10%) para 60 pollitos de 30 días dosis única: 0.5 ml; vía Intramuscular y subcutánea.**

**Vacuna No. 17 (5%) para 60 pollitos de 30 días dosis única vía intramuscular y subcutánea.**

**Vacuna No. 18 (1%) para 60 pollitos de 30 días dosis única vía Intramuscular y subcutánea.**

Período de Inmunización: 60 días.

Títulos de IHA: Previos a la descarga 1:57.3 - 1:32 - 1:10.8 respectivamente.

Observación: 30 días

Descarga: 10.000 DIE50 Cepa O.R. Chía vía intramuscular.

Lectura (Cuadro No. 3).

**5.3.1.3. Vacunación de 60 pollos así: a los 14 días de edad cepa F. vía óculo nasal.**

A los 30 días de edad cepa La Sota óculo nasal

**A los 90 días de edad vacuna oleosa No. 30 (10% de antígeno). 0.5 ml vía Intramuscular.**

**Inmunización: 60 días**

**Títulos de IHA: Previos a la descarga 1:64**

**Descarga: 10.000 DIE50% Cepa O.R. Chía vía Intramuscular.**

Lectura (Cuadro No. 3).

**5.3.1.4. Vacunación con una vacuna formulada con concentración de antígeno al 10% (Vac. No. 31). 50 pollos susceptibles de 20 días de edad fueron vacunados cada uno con 0.5 ml vía Intramuscular, para ser sometidos a chequeos de anticuerpos IHA periódicamente durante un lapso de 6 meses, con sangrías periódicas aproximadamente cada 30 días. Fig. No. 1.**

**5.3.2. En condiciones de campo.**

**5.3.2.1. Vacunación de 3.000 ponedoras de 18 semanas en una granja de la Sabana de Bogotá con dosis de 0.5 ml (concentración 10%) vía I.M. en la pechuga.**

No hubo ninguna reacción post-vacunal. A los 2 meses post-vacunación título IHA 1:65, promedio geométrico.

**5.3.2.2. Vacunación de 3.000 ponedoras de 20 semanas en una granja en el Valle del Cauca con dosis de 0.5 ml (concentración 10%) vía I.M. en la pechuga.**

No hubo ninguna reacción post-vacunal. A los 30 días post-vacunación título IHA 1:64, promedio geométrico.

**5.3.2.3. Vacunación de 4.200 aves de 32 semanas con dosis de 0.5 ml (concentración 10%) vía I.M. en la pechuga.**

No hubo ninguna reacción post-vacunal. Sangrías periódicas para determinación de títulos serológicos, IHA.

**Descarga: 90 días post-vacunación, 30 aves con 10.000 DIE50% vía I.M. de virus patógeno de N.C.**

Lectura: (Cuadro No. 3).

## RESULTADOS

En cuanto a los aspectos relacionados con obtención de semillas, cosechas, títulos Infectantes e Inactivación del antígeno, se cumplieron las expectativas requeridas para utilizar ese antígeno en la formulación de vacunas.

De las 43 formulaciones trabajadas, figuran 6 en el Cuadro No. 1, las cuales se comportaron en forma más regular a la aplicación de los controles físico-químicos (Cuadro No. 4).

En cuanto a control de calidad de las diferentes formulaciones los resultados de inocuidad para las vacunas 1, 16, 17, 18, 30, 31 figuran en el Cuadro No. 2. Durante un período de observación de 20 días no se observó ningún tipo de reacción ni en animales vacunados con dosis simple (0.5 ml) ni en pollos vacunados con 4 veces la dosis (2 ml).

Los resultados de esterilidad también fueron satisfactorios.

**Eficacia:** En el cuadro No. 3 se consignan los resultados obtenidos en las pruebas de descarga sobre las 5 formulaciones escogidas, en condiciones controladas.

Los resultados fueron plenamente satisfactorios a la aplicación de dosis única en pollitos susceptibles (Vac. 1, 16, 17, 18) aún para el caso de formulaciones con muy baja concentración de antígeno (1% para vacuna 18).

De manera similar fueron satisfactorios los resultados para la vacuna No. 30, la cual fue aplicada a pollitos con inmunidad básica debida a la aplicación previa de vacunas a virus vivo.

En cuanto a la vacuna No. 31, el seguimiento en la producción de anticuerpos IHA dió los siguientes resultados.

Sangrías	IHA Promedio geométrico
Previa a la vacunación	1:2
15 días post-vacunación	1:34
30 días post-vacunación	1:64
60 días post-vacunación	1:64
90 días post-vacunación	1:128
120 días post-vacunación	1:64
150 días post-vacunación	1:32
180 días post-vacunación	1:16 (Fig. No. 1).

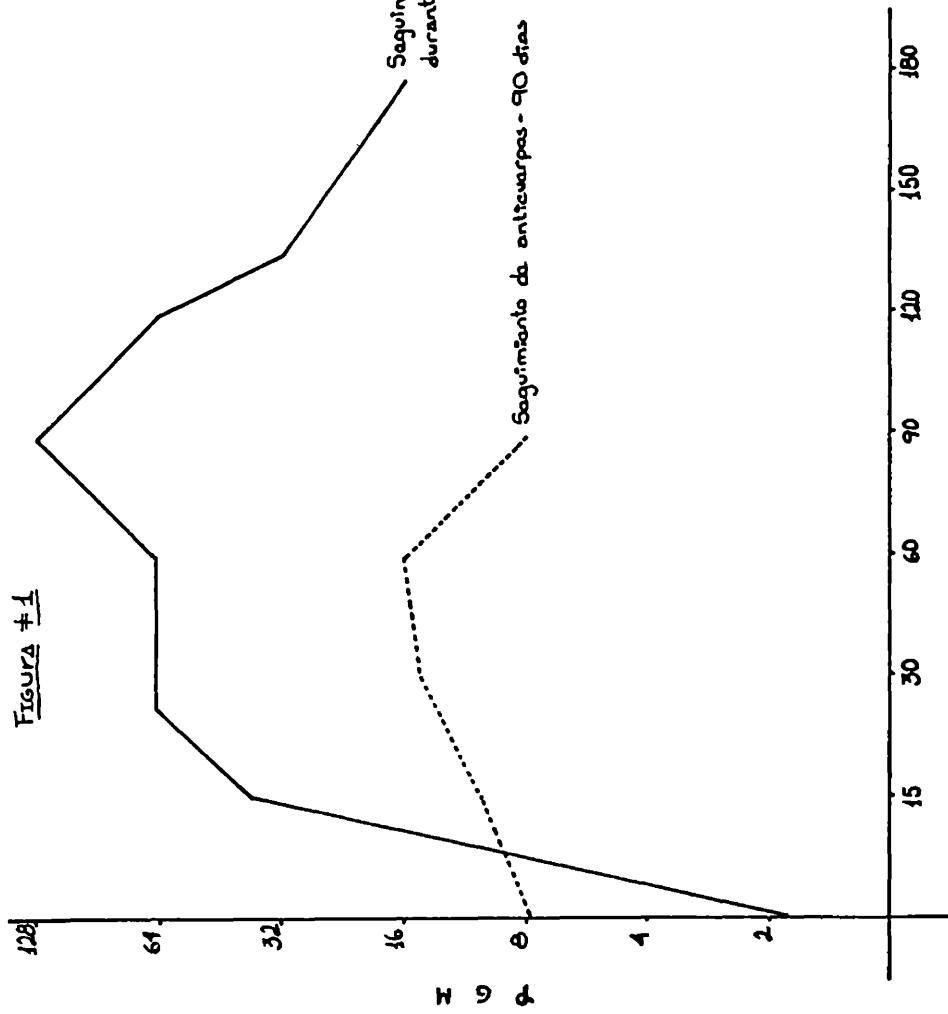
En las 3 pruebas de campo se comprobó que no se presentaron reacciones post-vacunales de ninguna naturaleza y como consecuencia de ello no fue necesario establecer en las granjas ningún tipo de tratamiento posterior a la vacunación. Respecto a potencia solamente en animales de una granja fue posible trabajar con descarga de 30 aves, 90 días post vacunación (con vacuna No. 1), obteniendo los siguientes resultados:

Lectura Post-descarga: Protección en vacunados 100 %  
Mortalidad en controles 100%

En cuanto a la serología de los animales involucrados en las diferentes pruebas, los resultados se consignan en el cuadro No. 3, teniendo en cuenta fundamentalmente los títulos de anticuerpos IHA, obtenidos antes de la descarga. Seguimiento hecho sobre animales vacunados durante 6 meses luego

Sangrías	IHA Promedio geométrico
Antes de la vacunación	1:8
15 días post-vacunación	1:11.3
30 días post-vacunación	1:14.9
60 días post-vacunación	1:16
90 días post-vacunación	1:8 (Fig. No. 1)

Figura #1



de aplicación de dosis única de vacuna oleosa No. 31 (10% de antígeno) se anotan en la figura No. 1.

En la figura No. 2 se consigna la comparación entre el promedio geométrico de los títulos serológicos, y el porcentaje de protección a la descarga.

## DISCUSION

No se obtuvieron en este trabajo los títulos de anticuerpos inhibidores de hemaglutinación mencionados por otros autores, post aplicación de vacunas oleosas, en ensayos de vacunación de animales de 32 semanas y en el campo (sin historia clara de planes de vacunación previos). Sin embargo, se logró un resultado mejor en la prueba controlada de laboratorio por seguimiento durante 6 meses con aplicación de una sola vacuna oleosa. Esto puede conducirnos a especular un poco en cuanto a que las condiciones de manejo y sanidad de los planteles tienen una influencia importante en la reacción de las parvadas a la aplicación de inmunógenos, más aún teniendo en cuenta que en nuestro medio esas condiciones son tan variables; lo cual es completamente diferente en países como los Estados Unidos en donde las respuestas logradas en condiciones controladas son altamente reproducibles en el campo.

En cuanto se refiere al comportamiento general de las vacunas oleosas trabajadas respecto a eficacia está de acuerdo con los resultados obtenidos en diferentes partes del mundo, frente a los test de descarga, el cual indudablemente es el sistema que conduce a obtener seguridad sobre la real capacidad protectora de una vacuna contra Newcastle.

R. Schalkot y Col (1982), dan como niveles presumiblemente protectivos de anticuerpos IHA, un promedio geométrico de 8, lo cual se pudo comprobar (Fig. No. 1) al trabajar con base en descarga, lotes de aves con promedio geométrico de 10 a 84 obteniendo protección del 100%.

Títulos serológicos de animales vacunados dan un índice razonable de que hay resistencia cuando el grupo es desafiado. Títulos de IHA entre 160 y 1.280 indican alto grado de resistencia; entre 20 y 80 resistencia moderada y entre 5 y 10 hay una resistencia que puede ser dudosa.

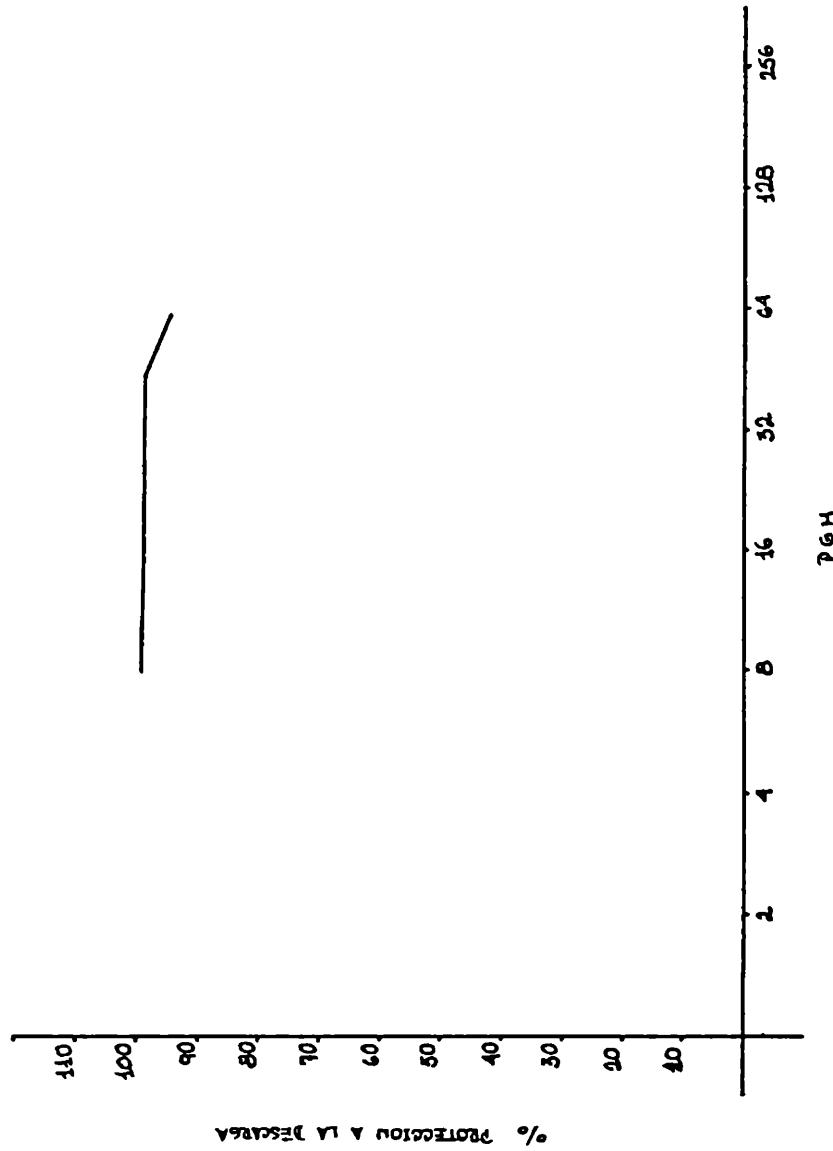
Títulos negativos usualmente indican que no hay resistencia. Esto no debe tomarse como norma, sin embargo los pollos que resisten el desafío no mostrando signos de la enfermedad, serían siempre resistentes a la infección. (Robert P. Hanson, 1975), lo cual quiere decir que ante una descarga y sus resultados, no hay discusión respecto a la calidad de un producto inmunizante, así los animales vacunados expresen títulos bajos de anticuerpos IHA.

## CONCLUSIONES

1. En varias pruebas y analizando los niveles de anticuerpos de animales vacunados y su comportamiento frente al desafío, concluimos que el resultado de IHA es relativo y no indica el estado inmunitario real de las aves.
2. Los resultados de pruebas de potencia al desafío de virus patógeno fueron muy buenos para todas las concentraciones de antígeno formuladas, incluido el 1%.
3. Las pruebas de inocuidad tanto a nivel de laboratorio como de campo, fueron plenamente satisfactorias, no hubo necesidad de recurrir a tratamiento.
4. Las pruebas de control de calidad, fundamentalmente las de eficacia, utilizadas para este estudio, son las establecidas en las normas internacionales, y exigibles para el control de calidad de Newcastle, de tal manera que las vacunas aquí trabajadas pasarían con éxito cualquier control oficial.

FIGURA #2

COMPARACION ENTRE EL 764 A 31% DE PROTECCION A LA DESCARA.



#### **REFERENCIAS**

1. C. S. EIDSON, P. VILLEGRAS and S. H. KLEVEN, Field trials with an oil emulsion N. C. disease vaccine in broiler breeders. Paper No. 1627 University of Georgia Veterinary Medical experiment station,1979.
2. H. D. STONE; M. BRUGH; G.A. ERICKSON and C. W. BEARD. Evaluation of inactivated N. C. disease oil emulsion vaccines. *Avian Dis.* Vol. 24 No. 1, 1980.
3. H. D. STONE.; M. BRUGH, and C. W. BEARD. Comparison of three experimental inactivated oil emulsion N. C. disease vaccines. *Avian Dis.* Vol. 25 No. 4, 1981.
4. M. PARTADIREDAJA, C. S. EIDSON, and S. H. KLEVEN. Immunization of broiler breeder chickens against N. C. disease with an oil emulsion vaccine. *Avian Dis.* Vol. 23 No. 3, 1979.
5. R. SCHALKOORT, D. M. MORGAN and P. B. SPRADBROW. The serological response of chickens to oil emulsion vaccines containing the V. strain of N. C. Disease virus. *Australian Vet. Journal* Vol. 58 June 1982.
6. ROBERT P. HANSON. Newcastle disease isolation and identification of avian pathogens. *Texas University* 1975.

