

RESPUESTA SEROLOGICA COMPARATIVA DE PONEDORAS DE TIPO COMERCIAL A LA APLICACION DE VACUNAS OLEOSAS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE*

**EDGAR MORENO ALBARK
EDGAR MORENO ALBARRACIN **
HELIA DE CARDONA ***
SERGIO LATORRE R. *****

INTRODUCCION

El Newcastle es una enfermedad comprobada en la mayoría de países, altamente contagiosa y específica que afecta a pollos, pavos, otras aves domésticas y algunas aves silvestres.

La enfermedad es de gran importancia económica para la industria avícola nacional no solo por el número de muertes, disminución en la producción de huevos, pérdida de peso, aumentos en los costos de producción, sino también por efectos aleatorios como baja calidad de los huevos, mala incubabilidad y reducidas ganancias obtenidas de parvas afectadas.

La vacunación es el método que se ha venido usando desde 1940 para prevenir y reducir las pérdidas provocadas por la enfermedad, así como adecuadas normas de manejo e higiene.

Existen en la industria básicamente dos tipos de vacunas: a virus vivo modificado y a virus inactivado, encontrándose en el mercado una mayor propensión por el uso de cepas vacunales y virus vivo.

El presente estudio tiene como finalidad establecer comparativamente la respuesta serológica de tres vacunas oleosas contra la enfermedad de Newcastle, evaluando la capacidad inmunogénica conferida a ponedoras de tipo comercial de 20 semanas de edad, medida por pruebas de inhibición de la hemoaglutinación realizadas cada 30 días y descarga con virus patógeno a los 90 y 180 días posteriores a la vacunación.

* Trabajo dirigido realizado en Cooperación con la Empresa Colombiana de productos Veterinarios VECOL, S.A.

** Estudiante que adelantó el proyecto como tesis de grado en la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. 1985.

*** Respectivamente:

Director; Profesor Asociado Universidad Nacional de Colombia.

Co-Director: Director del Centro de Diagnóstico ICA-Bucaramanga.

MATERIALES Y METODOS

1. Trabajo de Campo

1.1. Localización de la Granja. El presente estudio fue realizado en una granja avícola destinada a la producción de huevos de tipo comercial localizada en el municipio de Lebrija, Departamento de Santander del Sur. Esta granja se encuentra a una altura de 1.200 metros sobre el nivel del mar, a una temperatura promedio de 22° C.

1.2. Población Objeto. En esta investigación se utilizaron 4.000 gallinas, ponedoras de tipo comercial, de la raza SHAVER 579, de 20 semanas de edad y previamente inmunizadas contra la enfermedad de Newcastle a 10 días de edad con vacuna y virus vivo tipo B₁, a los 28 días B₁ y con la sota a las 12 semanas.

Las aves fueron separadas en tres secciones diferentes y previamente identificadas, alimentadas con dietas preparadas en la misma granja y ajustadas a los requerimientos nutricionales de la casa incubadora al igual que sometidas a las mismas condiciones de manejo.

1.3. Vacunación. Se utilizaron tres (3) vacunas inactivadas en adyuvante oleoso y designadas como A, B y C contra la enfermedad de Newcastle, que fueron aplicadas por vía intramuscular a la dosis de 0.5 ml por ave según recomendaciones de las casas productoras, con el fin de evaluar la respuesta serológica inducida en las aves.

1.4. Muestreos. Con el fin de determinar el nivel de anticuerpos presentes al tiempo de aplicación de las vacunas oleosas se hizo una sangría previa a la vacunación de cada uno de los grupos experimentales debidamente identificados. Esta sangría se hizo por el método de punción alar, 10 días antes de la vacunación y se hicieron posteriores sangrías cada 30 días por un período de 210 días.

1.5. Evaluación de reacciones postvacunales. Para la evaluación de reacciones posvacunales, se llevaron controles de morbilidad basados en la presencia de signos clínicos de la enfermedad y se registró la producción de huevos por cada grupo experimental, al igual que las posibles variaciones en la calidad, grosor de la cáscara y fragilidad.

2. Trabajo de Laboratorio.

2.1. Determinación de los niveles de anticuerpos circulantes. Para evaluar la eficacia de las vacunas se usó en el presente trabajo, la prueba de inhibición de la Hemaglutinación.

2.2. Prueba de potencia. Para las pruebas de potencia se utilizaron los siguientes elementos:

— Aves

A los 90 días postvacunación fueron sometidas a descarga con virus patógeno 6 gallinas por cada uno de los grupos experimentales A, B, C y 5 testigos.

A los 180 días postvacunación fueron descargadas 10 gallinas por cada grupo experimental A, B, C y 10 testigos. Los resultados fueron expresados en las Tablas 3 y 4 respectivamente.

— Virus de Descarga

Para evaluar la protección conferida por las vacunas fue utilizado un virus de campo velogénico-viscerotrópico ORCHIA, aplicado por vía intramuscular a la dosis de

$$10^{4.0} \text{ DIE}_{50}/^{0.5} \text{ ml.};$$

Estas aves fueron observadas durante 10 días posteriores a la descarga para registrar la presencia de signos clínicos de la enfermedad o muerte.

3. Necropsia e Histopatología.

Las aves sometidas a la descarga fueron observadas por un período de 10 días al término de los cuales se efectuó la necropsia a las aves testigo.

Para el examen histopatológico fueron tomadas muestras de los siguientes tejidos: cerebro, riñón, corazón, pulmón, hígado, bazo, tráquea, intestino delgado, de testigos y grupos vacunados y procesados por el método de tinción Hematoxilina-eosina, en el Centro de Diagnóstico del ICA en Bucaramanga.

4. Análisis Estadístico.

Se realizó un análisis de varianza por el método de Friedman (14) para un diseño combinado de bloques al azar con el fin de demostrar las diferencias en el comportamiento de las vacunas oleosas A, B, C y los niveles de anticuerpos presentados por las tres vacunas. En éste estudio se trabajó con 6 grados de libertad para la variación entre vacunas y 12 grados de libertad para el error. En donde los valores de F observado fueron 1.67; 17.47 para la variación entre tomas y entre vacunas respectivamente, y los valores de F requeridos para 0.05 fueron 3.0 y 3.88 (Ver tabla 1).

RESULTADOS Y DISCUSION

A la prueba de IH de los sueros obtenidos a la sangría de las aves, realizada 10 días antes de la aplicación de las vacunas oleosas, se obtuvo un PGT de 4.26 común para todos los grupos experimentales, los cuales habían tenido un tratamiento similar y éste PGT fue el punto de partida para iniciar la determinación de los niveles de anticuerpos circulantes posteriores a la vacunación.

En los días posteriores a la vacunación no fueron encontradas reacciones postvacunales diferentes de una baja en el consumo de alimentos registrado en 55 gr/ave/día para todos los grupos y que se normalizó hasta el 3o. día (consumo normal de alimentos a las $\gamma \pm$ 20 semanas es 72 gr/ave) lo cual puede ser atribuido al stress a que fueron sometidas las aves en las prácticas de manejo para la vacunación.

Al hacer la inspección ocular del sitio de la inyección al tercer día postvacunación no se observaron signos de inflamación o reacción adversa a la vacuna salvo un leve eritema causado por el efecto físico de la aguja utilizada, que había desaparecido a los 30 días sin huella de enquistamiento, esta observación es válida para las tres vacunas utilizadas.

La densidad y textura de las vacunas utilizadas presenta diferencias pero no se registró dificultad en la aplicación de las mismas aún cuando se utilizó el mismo equipo y se utilizó el mismo equipo y se mantuvieron refrigeradas todo el tiempo; la dosis de aplicación requiere ser corregida con alguna frecuencia dada la tendencia de las jeringas a descalibrarse con la aplicación continuada y la rapidez que esta práctica requiere por el elevado número de animales que se vacunan.

Con el inicio de la postura y a la semana 24 (30 días después de la vacunación) fueron examinados 50 huevos al azar por cada grupo vacunal y se encontró que no había diferencias significativas en cuanto a color, grosor de la cáscara y color de la yema determinándose así que las vacunas oleosas no causan modificaciones en la conformación de los huevos.

La ausencia de reacciones post-vacunales indeseables en la aplicación de estas vacunas se constituye en una gran ventaja, pues con la aplicación de vacunas oleosas se disminuyen a nivel de granja, los mayores riesgos de stress ocasionados por las prácticas de manejo que son empleadas con vacunas a virus vivo y que ocasionan alteraciones en los niveles de producción.

La tabla 2 y la Figura 1 permiten observar niveles de anticuerpos circulantes determinados por la prueba de inhubición de la hemaglutinación (IH) y el comportamiento serológico de las tres vacunas oleosas. El mayor promedio geométrico del título (PGT) 1:149.28 fue alcanzado por la vacuna B a los 120 días postvacunación.

TABLA . 1 Análisis de varianza* Niveles de Anticuerpos (PGT) presentados por 3 vacunas

Tomas. Grupo	1	2	3	4	5	6	7	Total
A	7.49	10.35	16.81	42.87	77.27	22.97	11.89	189.65
B	6.91	12.31	37.32	149.28	113.13	22.97	12.31	354.23
C	5.61	6.45	7.02	56.56	45.94	17.41	7.57	146.56
Totales	20.01	29.11	61.15	248.71	236.34	63.35	31.77	640.44
Promedio	6.67	9.70	20.38	82.90	78.78	21.11	10.56	

Valores de F

Factor de corrección:	19531.59	Suma de cuadrados:	37463.31
Varianza entre vacunas:	22974.44	Error	7888.2
Varianza entre tomas:	6600.67		

Varianza	GL	Sumatoria	Promedio	Valores de F		
				Observado	Requerido	
				0.05	0.01	
Entre tomas	6	6600.67	1100.11	1.67	3.0	4.82
Entre vacunas	2	22974.44	11187.22	17.47	3.88	6.93
Error	12	7888.2	657.35			
Totales	20	37463.31				

*** COLQUHOUN, D. Lectures on biostatistics, the analisis of variance how to deal with two or more samples. Clarendon Press, Oxford. pp. 171-213 (1971).**

Se observó que a partir de los 150 días postvacunación los PGT de todas las vacunas comenzaron a descender rápidamente alcanzando títulos similares 11.89 y 12.31 para A y B, 7.57 para C a los 210 días.

Los porcentajes de producción de cada uno de los grupos A, B y C fueron los esperados.

El mayor pico de producción se obtuvo a las 28 semanas de edad (± 60 días postvacunación) no encontrándose una relación directa con el mayor PGT de título IH. Se observa que los PGT decrecen a un ritmo más acelerado que los porcentajes de producción.

En la prueba de potencia (Tabla 3) 90 días postvacunación se observó una protección a la descarga del 100% para las aves vacunadas con oleosa B y del 83% para A y C.

En la (Tabla 4) aparecen los resultados de la prueba de potencia realizada a los 180 días en donde se obtuvo protección del 100% para las oleosas A y B y del 90 para la oleosa C. La mortalidad de los controles fue del 100%.

**TABLA No. 2 Niveles de anticuerpos circulantes determinados por la prueba de IH
ponedoras de tipo comercial con 3 vacunas inactivadas en adyuvante
oleoso contra la enfermedad del Newcastle.**

Edad en Semanas	Título	IH	(PGT)
	Oleosa A	Oleosa B*	Oleosa C
24	7.49	6.91	5.61
28	10.35	12.31	6.45
32	16.81	37.32	7.02
36	42.87	148.27	56.56
49	77.27	113.13	45.94
44	22.97	22.97	17.41
48	11.89	12.31	7.57

* Oleosota VECOL

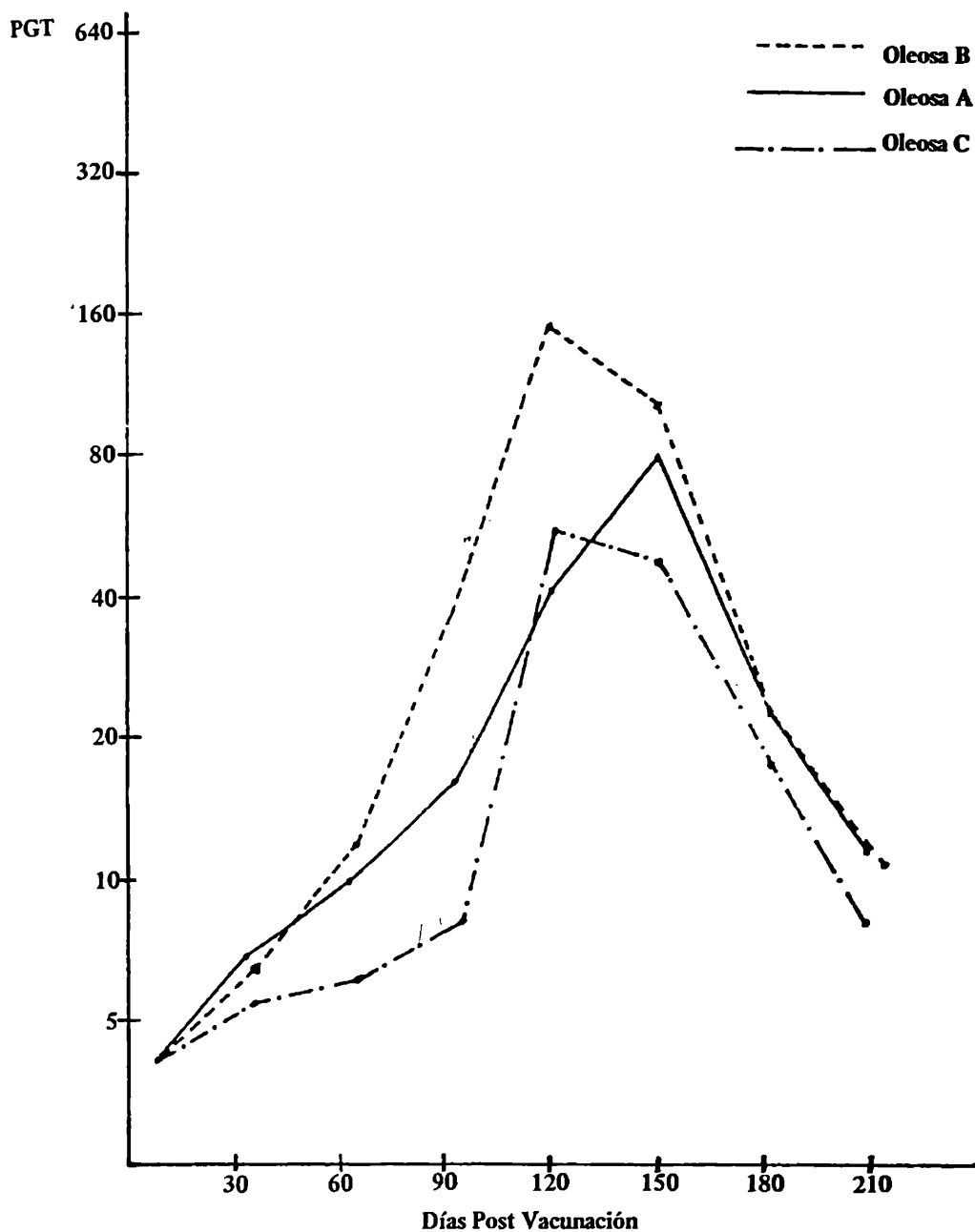


FIGURA 1. Respuesta a la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH) de ponedoras de tipo comercial vacunadas a las 20 semanas de edad con 3 vacunas inactivadas en adyuvantes oleoso contra la enfermedad de Newcastle.

TABLA No. 3. Respuesta de Protección a la descarga con un virus patógeno OR-CHIA ($10^{4.0}$ DIE₅₀/05 ml). Inoculado por vía intramuscular a los 90 días postvacunación.

Vacuna	Respuesta/Total descargos	Protección %	Mortalidad %
A	1/6	83	17
B*	0/6	100	—
C	1/6	83	17
Controles	6/6	—	100

* Oleosota VECOL

TABLA No. 4. Respuesta de protección a la descarga con virus patógeno OR-CHIA $10^{4.0}$ DIE₅₀/05 ml) inoculado por vía intramuscular a los 180 días postvacunación.

Vacuna	Respuesta/Total descartados	Protección %	Mortalidad %
A	0/10	100	—
B*	0/10	100	—
C	1/10	90	10
Controles	10/10	—	100

(* Oleosota VECOL

Los porcentajes de producción son muy buenos para la vacuna B y satisfactorios para las vacunas A y C. Así pues estas vacunas confieren una inmunidad sólida a las 44 semanas de edad.

La prueba de potencia es el método más confiable para determinar si las aves vacunadas están protegidas, con la muerte del 100% de todos los controles (no vacunados) se establece la alta patogenicidad del virus utilizado en la descarga.

Las aves que sucumbieron a la prueba de potencia (controles) presentaron síntomas

Las aves que sucumbieron a la prueba de potencia (controles) presentaron síntomas nerviosos y respiratorios compatibles con la enfermedad, antes de morir.

Se les practicó la necropsia y las lesiones encontradas en los diferentes órganos varían en intensidad de una ave a otra; las alteraciones patológicas fueron entre otras:

- Opacidad de los sacos aéreos.
- Traqueitis Hemorrágica, con abundante exudado fibrinoso
- Hemorragias patequiales y equimóticas en el proventrículo
- Cambios de aspecto hemorrágico-necrótico del intestino delgado, especialmente en la parte posterior del duodeno, el yeyuno e ileón.
- Áreas hemorrágicas necróticas en las tonsilas cecales.
- Hemorragias patequiales en el resto del tracto gastrointestinal.
- Material de la yema fluido en la cavidad abdominal y flacidez de los folículos.
- Presencia de plumas y material extraño en el buche (pica o malasia).

En el análisis estadístico de la respuesta serológica inducida por las vacunas en donde los valores de F están basados en 6 y 2 grados de libertad, los valores requeridos para la significación estadística se obtuvieron a partir de la Tabla de F (41) encontrándose que las dos fuentes de variación entre tomas está dada por los promedios geométricos de los títulos (PGT) obtenidos por cada vacuna y el comportamiento de las vacunas presentaron una variación significativa para un F requerido de 0.01, esto concluye que existen diferencias reales en el comportamiento serológico de las diferentes vacunas.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo, al evaluar los altos porcentajes de protección obtenidos a las pruebas de potencia, se concluye que las tres vacunas oleosas de tipo comercial, confieren una buena inmunidad y cumplen con los objetivos para los cuales fueron producidos.

Con el uso de vacunas oleosas se disminuyen a nivel de granja, prácticas de manejo que empleadas en las vacunaciones a virus vivos implicarían mayores riesgos de stress y bajarían los niveles de producción aumentando los costos de manejo.

Estas vacunas también economizan tratamientos postvacunales requeridos por vacunas a virus vivo.

Dado que en este estudio los niveles de anticuerpos circulantes medidos por la prueba de inhibición de la hemaglutinación (PGT) decrecen más rápidamente en el tiempo que los porcentajes de producción, se recomienda hacer una evaluación del estado de protección de las aves (prueba de potencia) para determinar con base en ello la decisión respecto a una posible revacunación.

R E S U M E N

Tres vacunas de tipo comercial, inactivadas y emulsionadas en aceite fueron aplicadas como última vacuna a ponedoras de tipo comercial, previamente inmunizadas con vacunas a virus tipo B₁ contra la enfermedad de Newcastle.

Para evaluar el comportamiento serológico y eficiente de las vacunas fueron realizadas pruebas periódicas de inhibición de la hemaglutinación (IH) y pruebas de potencias a los 90 y 180 días post-vacunación, con un virus velogénico- viscerotrópico OR-CHIA de la enfermedad de Newcastle.

Las vacunas oleosas presentaron títulos protectivos aceptables corroborados por las pruebas de potencia, en donde se encontró protección superior al 83% para todas las vacunas estudiadas, a los 90 y 180 días post-vacunación.

BILIOGRAFIA

1. ALLAN W. H., J. E. LANCASTER and TOTH. Newcastle disease vaccines, their production and use. FAO, Rome, pp. 74-79. 1978.
2. ALEXANDER, D. J. Comparison of the newraminidases of three avian paramoxiviruses. Archiv. ges. Virusforsch 44:28-34. 1974.
3. BEACH, J. R. The neutralization in vivo of avian pneumoencephalitis by Newcastle disease immune serum. Science 100:361-362. 1944.
4. BEAR W., Prug M., ERIKSON GLA. and STONE H. D. Evaluation of inactivated Newcastle disease oil-emulsion vaccines. Avian Diseases. Vol. 24, No. 1, pp. 111. 1979.
5. BEAR W. C., La enfermedad de Newcastle, características y medios de control. V. Seminario Internacional de Patología aviar, Memorias. Departamento de Patología aviar, Universidad de Georgia, 1983.
6. Beaudette, F. R. and J.J. BLACK. Newcastle disease in New Jersey. Proc. Ann Meet U.S.S. Livestock Sanit Ass. 49:49-58, 1946.
7. BOX P.G. and FURMINGER I.G.S. Newcastle disease antibody Level in Chickens after vaccination with oil - emulsion adjuvant killed vaccine. Vet. Rec. Vol. 96 pp. 108-111, 1975.
8. BUSTOS P. L. Anotaciones de clase e información personal sobre la enfermedad de Newcastle, 1983-1984.
9. BRUGH M. and SIEGEL H. S. Inactivated Newcastle diseases vaccines: Influence of virus concentration on the primary immune response. Poultry Science. Vol. 57 pp. 892-896, 1978.
10. BRUGH, J. Jr. Enfermedad de Newcastle: Diagnóstico y serología. V. Seminario Internacional de Patología Aviar. Memorias. Universidad de Georgia. Departamento de Medicina Aviar, 1983.
11. BURNET, F. M. The affinity of Newcastle disease virus to the influenza virus group. Aust. J. exp. Bio. Med. Sci. 20:81-88. 1973.
12. CADENA, J. y SCOTT. Dos casos de Newcastle en humanos. Revista NOTI-ICA, 1973.

13. CESSI, D. and NARDELLI L. Vaccination against Newcastle disease efficacy of an oil-emulsion vaccine. *Avian Pathology*, Vol. 3 pp. 247-253, 1974.
14. COLQUHOUND, D. Lectures on Biostatistic. The analisis of variance. Hos to deal with two or more samples. Claredon Press Oxford. pp. 171-213. 1971.
15. DOHMS, J. E. and V. M. SALF. Criteria for Evaluating Inmunosupression. *Avian Diseases*, Vol. 28 pp. 305-310. February, 1983.
16. DOYLE T. M. A hitherto unrecorded disease, of fowls due to a filter-passing virus. *J. Compo. PATHOL, Therap.* 40:144-169, 1972.
17. EIDSON, C.S., P. VILLEGAS and S. H. KLEVEN. Field trials an oil-emulsion New-castle disease vaccine in broiler breeder. *Poultry Science*. Vol. 59 pp. 702-707, 1980.
18. ESTUPIÑAN J. y J. VILLATE. Información básica sobre la enfermedad de Newcas-tle para veterinarios. División de Producción pecuaria y Departamento de Ciencias Veterinarias ICA. Hojas mimeografiadas, 1978.
19. GOMEZ TRIANA A. Poder inmunógeno de la vacuna contra la enfermedad de Newcastle a nivel de expendios comerciales. Tesis de Grado. Universidad Nacional, FMVZ, 1981.
20. HANSON, R. P. Newcastle Disease. *Avian Pathology*. Chapter 19, pp. 513-532. 1978.
21. HINCAPIE O. y YATES V. Enfermedades respiratorias de las aves. *Revista ICA Bo-gotá*, 1(2): pp. 117-121. Dic. 1966.
22. HITCHNER, S.B., DOMERMUTH CH., PURCHASE H. G. and WILLIAMS. Isola-tion and Identification of avian pathogens. A.A.A.P. 1983.
23. HITCHNER, S. B. and E. P. Johnson. A virus of Low virulence for inunizing fowls against Newcastle disease (avian pneumoencephalitis) *Med. Vet.* 43:525-530. 1948.