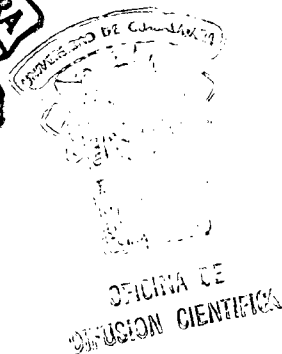


# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Valoración de la Inmunidad Usando Diferentes Programas de Vacunación para la Prevención de la Enfermedad de Newcastle en Pollos para Abasío.

## TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO  
ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ALFREDO FDO. BECERRA DIAZ

Generación 71 - 76

GUADALAJARA, JAL., 1978

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"VALORACION DE LA INMUNIDAD USANDO  
DIFERENTES PROGRAMAS DE VACUNACION  
PARA LA PREVENCION DE LA ENFERMEDAD  
DE NEWCASTLE EN POLLOS PARA ABASTO"

ALFREDO FERNANDO BECERRA DIAZ.

A MIS PADRES:

*Sr. Rodolfo S. Becerra Villa  
Sra. Bertha Diaz de Becerra  
por el amor e interés brindado  
durante el tiempo de estudian-  
te, sin esperar recompensa algu-  
na.*

A MIS HERMANOS

*Claudio, Lilia, Rodolfo, Oscar,  
Martha, Bertha, Ana Rosa, Lucia  
Elizabeth,  
que de manera directa participa-  
ron en mi formación.*

21 h.

A MI ESPOSA

MARY CARMEN

que en todo momento me  
ha brindado comprensión  
y cariño.

A MI HIJA

MARY CARMEN

Por ser el nuevo impulso  
de superación

A MIS MAESTROS

Con agradecimiento y  
respeto por su valiosa  
dirección.

## I N T R O D U C C I O N

Desde 1948, en que Olvera(3) registró la muerte de --  
300,000 aves en el Distrito Federal, la enfermedad de ---  
NEWCASTLE(Enc), [ha sido un serio problema para la avicul-  
tura Mexicana.] El desarrollo que la avicultura tuvo desde-  
fines de la década de 1950 hasta la fecha se ha visto fre-  
nado por la E.N.C., [que es causa de pérdidas por la morta-  
lidad y la baja de producción que la acompañan.

[Las pérdidas causadas por la E.N.C., son más serios -  
en las explotaciones de pollo de engorda y en la crianza de  
pollo de reemplazo,] en las que la enfermedad produce morta-  
lidad del 5% al 15% , y en ocasiones, del 50% o más, así --  
como retraso en el crecimiento; en el caso de explotaciones  
de gallinas de postura la mortalidad es baja pero las perdi-  
das que provoca por la disminución en la producción son muy  
altas.

En lo que corresponde a la Ciudad de Guadalajara, Ja-  
lisco, En múltiples ocasiones hemos observado, ya por ex--  
periencias personales o por reportes hechos el laboratorio-  
de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, --  
(S.A.R.H.), Tlaquepaque, Jal. (2) la presencia de brotes-  
en la E. N. C., en mayor o menor intensidad, así como ---  
también se observa la fuerte variante de títulos en ----  
las pruebas diagnósticas INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINA --  
CION, ( HI ) lo que nos inquieta por medio de este estudio,  
a valorar la inmunidad que se obtenga en TRES REPLICAS ---

efectuadas en pollos para abasto y [determinar en último-  
análisis cual o cuales son los programas que mejor resul-  
tado dan en esta prueba, en la vacunación de las parva-  
das de pollos para engorda, en la época actual de Octu-  
bre a Mayo en la ciudad de Guadalajara,

## MATERIAL Y METODOS

- 80 Pollos de 1 día de edad
- 4 Casetas de 5 x 4
- Virus vivo modificado cepa lasota.
- Virus inactivado emulsionado en aceite
- Tubos de Kahn
- Gradillas de Kahn
- Pipetas Serológicas de I.C.C., graduadas en 0.01 cc.
- Pipetas Serológicas de 5.c.c., graduadas en 0.05 cc.
- Globulos rojos normales de gallina (aves no vacunados nunca contra la E.N.C.
- Un virus conocido de E.N.C., de titulo elevado marca comercial.
- Suero de aves sospechosas.
- Jeringas de tuberculina estériles
- Agujas de 1.5 pulgadas del No. 22
- Solución de citrato de sodio al 5%
- Centrifuga
- Solución salina Fisiológica 0.85%

## M E T O D O S

Se emplearon 80 pollos de engorda de 1 día de edad, -- procedentes de una compañía incubadora comercial de esta -- ciudad con los cuales se formaron 4 grupos I-II-III-IV, -- constando de 20 pollos cada grupo y aislados en gallineros -- separados y a una distancia en línea recta de no menos 2 ki -- lómetros.

Las aves del grupo I, fueron vacunadas a VIRUS VIVO MO -- DIFICADO cepa Lasota por vía ocular (gota en el ojo) a los -- 15 días de edad, repitiendo a los 30 y 45 días nuevamente; -- la dosis aplicada en las 3 ocasiones fue siempre la misma -- recomendada por los fabricantes.

Los del grupo II fueron vacunados a los 15 días de -- edad a VIRUS VIVO MODIFICADO cepa Lasota por vía ocular y -- simultáneamente por vía subcutánea en la base de la cabeza -- se aplicaron 0.5 ml., de vacuna a VIRUS INACTIVADO EMULSIO -- NADO EN ACEITE (V.I.E.A.) posteriormente a los 35 días de -- edad se revacunaron con VIRUS VIVO MODIFICADO cepa Lasota -- por vía ocular.

Los del grupo III como única aplicación fue la de 0.5 -- ml., de V.I.E.A., a los 15 días de edad por vía subcutánea -- en la base de la cabeza.



Los pollos del grupo IV (testigos) se mantuvieron sin vacunar durante el tiempo que duró la prueba (cuadro I).

Para hacer la prueba de (HI), se tomaron muestras de sangre de cada pollo a los 13, 24, 34, 41 y 63 días de edad.

Para llevar a cabo el sangrado de los pollos se utilizaron jeringas de tuberculina estériles con aguja de 1.5 - pulgadas del No. 22 y el sangrado se hizo directo a corazón de los 13 a los 34 días.

De los 41 a los 63 días de edad se hizo la toma de la vena marginal del ala con jeringa de tuberculina estéril y aguja de 1.5 pulgadas del No. 22.

Los sueros que se obtuvieron fueron inactivados a 56° C., por 30 minutos y congelados a 30°C., hasta el momento de usarse.

Cada uno de los sueros fue sometido a la prueba de la inhibición de la Hemaglutinación (HI) previo control Bacteriológico.

C U A D R O I  
PROGRAMA DE VACUNACION.

GRUPO	Días de edad de las aves para aplicar la vacuna.	Vía de administración	Tipo de vacuna
I	15 - 30 - 45	Ocular	Virus vivo modificado cepa lasota
II	15	Ocular	Virus vivo modificado cepa lasota
		Sub-cutánea	Virus inactivado emulsionado en aceite. V.I.E.A.
	35	Ocular	Virus vivo Mod Cera lasota.
III	15	Sub-cutánea	Virus inactivado emulsionado en aceite. V.I.E.A.
IV	TESTIGO		

## REACCION DE INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION.

Preparación del virus. Se toma un frasco de líquido-amniolantoide del congelador y se descongela a la temperatura del cuarto o bajo agua fría corriente. Se titula en tubos por el método de hemoaglutinación y el último tubo--mostrando clara aglutinación corresponde el título del virus, es decir, la más alta dilución del virus que produce aglutinación de los globulos rojos lavados de gallina y esto equivale a una unidad aglutinante. El siguiente tubo a la izquierda, que contiene una dilución más baja de virus--o sea la doble cantidad de virus, equivale a dos unidades--aglutinantes, que es lo que vamos a emplear para la reaccion de inhibición de hemoaglutinación. Entonces hacemos--la suspensión del virus en solución salina fisiológica al 0.85% de modo que nos queden dos unidades aglutinantes de virus. (6)

Preparación de los globulos rojos. La sangre extraída de gallina, es preservada en solución de citrato de sodio--al 5% por cuatro semanas o un poco más.

De esta suspensión se toma una cantidad suficiente --para preparar la cantidad deseada de globulos rojos y se--lavan tres veces en solución salina, con una concentración de 0.85% contrifugando (centrifuga de cuatro tubos de ensayo de 115 Volts Modelo A-244 Bosworth, S.A.) las dos prime

rias veces a 1,500 R.P.M., y la célula a 1,000 R.P.M., por 5 minutos; el líquido sobrante es retirado y una cantidad de 0.5 c.c., de globulos rojos es tomada para hacer una suspensión al 0.5% en solución salina fisiológica al 0.85%. --

(6)

### OBTENCIÓN DE LOS SUEROS Y PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES.

Se sangra en las condiciones más asepticas posibles, como son jeringa y agujas estériles y manos limpias. La sangre del ave sospechosa es recogida en un tubo de ensayo, que para facilitar la extracción del suero se coloca en plano en clínado, en relación a la mesa donde se está trabajando. La centrifugación puede ayudarnos a obtener mayor cantidad de suero. Las diluciones se preparan en la siguiente forma.

### HEMOAGLUTINACION.

Se coloca una serie de 10 tubos de ensayo en una grilla de madera para los mismos, en el primero de los cuales se ponen 9 c.c., de solución salina y en los 9 tubos restantes 5 c.c., de solución salina; el primer tubo se le agrega 1 c.c., del suero que se va a probar, quedando 10 c.c., de una dilución de 1 : 10, se pipetea 5 veces para que se mezclen bien y se pasan 5 c.c., al segundo tubo, donde queda una dilución de 1 : 10 y así sucesivamente, hasta el décimo tubo donde una dilución de 1 : 5120. La cantidad

de las diluciones del suero para verificar una reacción de inhibición es muy pequeña por lo que nos queda suficiente para repetir en el caso necesario. (6).

## PROCEDIMIENTOS PARA VERIFICAR LA PRUEBA.

### INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION.

1. Se coloca una serie de 10 tubos de ensayo en una -- gradilla y se le agregan 0.25 c.c., de las diluciones ya -- preparadas del suero; para poder usar una sola pipeta se de -- be empezar agregando al décimo tubo la dilución correspon-- diente a 5120, o sea el 10° tubo de ensayo y después a los -- siguientes tubos hasta terminar en el primer tubo con la di -- lución 1 : 10.

2. Se adiciona a cada uno de los 10 tubos 0.1 c.c., -- del virus que contenga 2 unidades hemoaglutinantes ya des-- critas, se agita perfectamente y se deja en incubación a la -- temperatura ambiente del cuarto por lo menos 15 minutos. Al -- gunos investigadores recomiendan 30 minutos, para que la -- unión antígeno anticuerpo sea más completa.

3. Pasado este lapso del tiempo se agregan 0.5 c.c., -- de la suspensión de globulos rojos de gallina a cada uno de -- los tubos quedando un volumen total de 0.85 c.c., en cada -- tubo, se agitan las mezclas y se dejan en reposo a la tempe -- ratura del cuarto hasta hacer la lectura.

4. Preparación de los controles.

a). Control de aglutinación: solución salina ----

(0.25 c.c.) virus (0.1 c.c.) y globulos ro-  
jos (0.5 c.c.)

- b). Un control de solución salina 0.25 ml., y glo-  
bulos rojos 0.5 ml.
- c). Un control de solución salina, suero y globu-  
los rojos.

5. Lectura de la prueba. Se hacen tres lecturas a los-  
15, 30 y 45 minutos respectivamente y el título de inhibi-  
ción de hemoaglutinación del suero probado, corresponde al-  
último tubo mostrando sedimentación de los globulos rojos--  
(Formación de botón en el fondo del tubo), en contraste con  
la aglutinación de los tubos restantes. LA LECTURA QUE SE \_  
TOMA EN CUENTA ES LA ULTIMA Y EL TITULO CORRESPONDE A 2 UNI-  
DADES AGLUTINANTES.

En el control No. 1 que se lleva virus y globulos ro--  
jos, debe hacer típica aglutinación, debe haber sedimenta-  
ción en el fondo del tubo.

En el control No. 2 debe haber sedimentación en el fon-  
do del tubo.

En el control No. 3 debe haber sedimentación en el fon-  
do del tubo.

## R E S U L T A D O S .

Los resultados obtenidos en las pruebas de (HI) se - -  
ilustran en el cuadro II.

De los programas de vacunación que se sometieron a - -  
prueba el del grupo I, en base a la aplicación de virus vi-  
vo modificado por vía ocular, alcanzó la más alta lectura -  
de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación al momen-  
to de su primera valoración: La respuesta a la segunda vacu-  
nación muestra un incremento lento pero continuo, mientras-  
que el estímulo de la tercera vacunación realizada a los 45  
días de edad revela una reacción mucho más enérgica al anti-  
geno vacunal como se aprecia en la lectura hecha a los 63 -  
días de edad.

El grupo II tuvo el más alto nivel de anticuerpos a - -  
los 63 días de edad a pesar de que a los 24 días mostraron-  
menor cantidad que el estimulado por el virus activo en el  
grupo I; Las tres lecturas posteriores superaron a las de -  
los otros dos grupos, debiéndose hacer notar, sin embargo -  
que hubo un descenso transitorio de anticuerpos posterior-  
a la vacunación efectuada a los 35 días de edad.

En el grupo III fue constante el incremento en el ni-  
vel de anticuerpos a partir de la vacunación con V.I.E.A., -



sin embargo este grupo fue más bajo que el I y II.

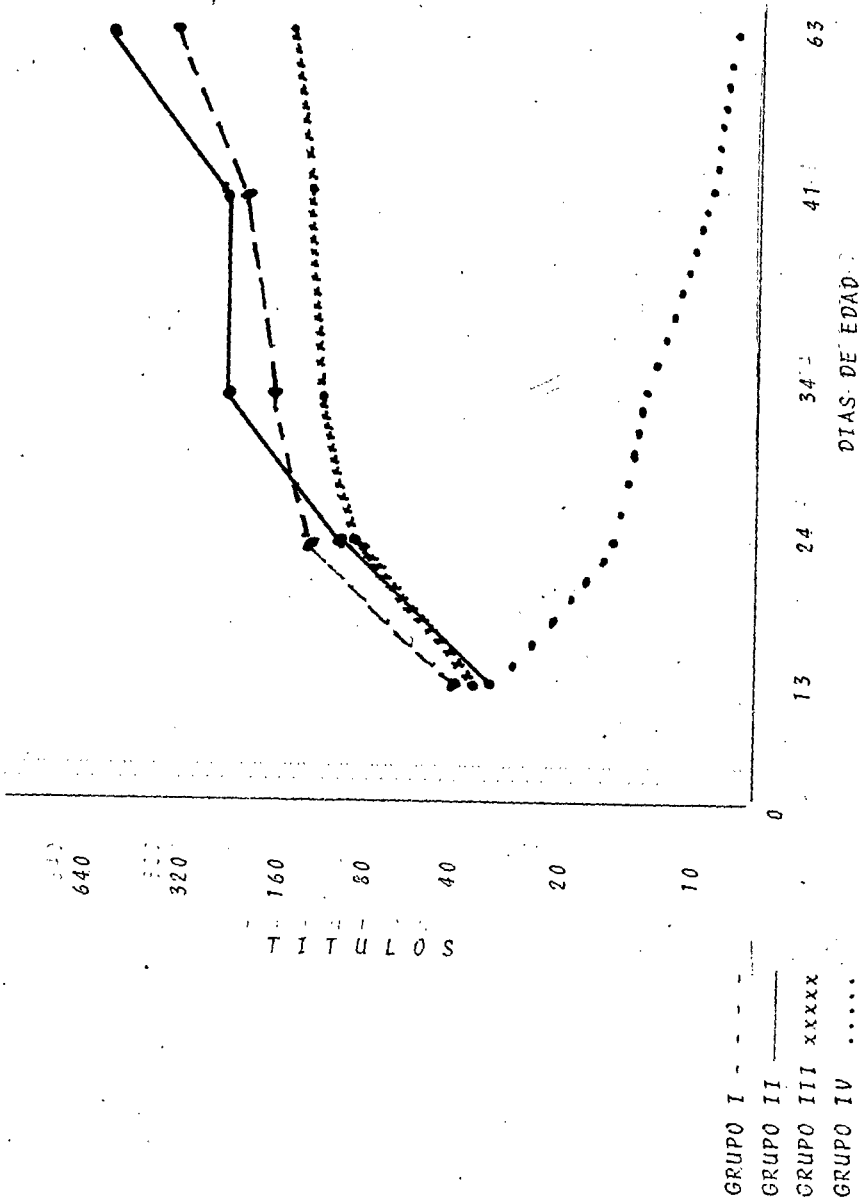
En el grupo IV la baja de anticuerpos fue constante --  
desde la primera prueba hasta el fin de la misma.

CUADRO II  
 RESULTADO DE LAS PRUEBAS DE INHIBICION DE LA  
 HEMOAGLUTINACION.

RELACION No. DE AVES. TITULOS H.I.

TITULOS H.I.	0	10	20	40	80	160	320	640
13 días								
Grupo - I			10	6	4			
Grupo - II		2	10	6	2			
Grupo - III			10	8	2			
Grupo - IV		2	10	6	2			
24 días								
Grupo - I				2	10	6	2	
Grupo - II				7	9	2	2	
Grupo - III			4	4	4	8		
Grupo - IV		14	6					
34 días								
Grupo - I					8	8	4	
Grupo - II				2	2	6	10	
Grupo - III				2	8	10		
Grupo - IV		16	4					
41 días								
Grupo - I				2	12		4	2
Grupo - II					4	12	2	2
Grupo - III				1	9	10		
Grupo - IV	6	14						
63 días								
Grupo - I						4	12	4
Grupo - II						2	10	8
Grupo - III					8	10	2	
Grupo - IV	14	6						

GRAFICA DE TITULOS INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION.



## D I S C U S I O N

Observamos que la cuantificación de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación guardan cierta proporción con los anticuerpos neutralizantes y que estas técnicas proporcionan más que un conocimiento real de la inmunidad un índice de la intensidad de la respuesta inmunológica del antígeno (4).

De los tres programas probados el que combina el uso del virus vivo modificado y el virus inactivado Emulsionado en Aceite demostró mayor efectividad alcanzando mayores niveles de anticuerpos. Al parecer la prolongada permanencia del antígeno viral inactivado que se logra con el adjuvante emulsionado, establece una sólida base para lograr una memoria del sistema inmunocompetente más energética a las vacunaciones posteriores a virus vivo. La intensa reacción a las vacunas sugiere que el V.I.E.A., puede ser útil en aves de postura que tienen vida comercial más prolongada que las aves de engorda.

Trabajos realizados previamente, (5) reportan que el V.I.E.A., estimula la producción de anticuerpos séricos por períodos más prolongados que los obtenidos con otras vacunas inactivadas, no obstante la protección local en los epitelios puede disminuir hasta ser inexistente aún cuando las aves muestren niveles elevados de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación; por esta razón la vacunación reali-

zada a los 35 días de edad con virus vivo modificado, fue aplicada por vía ocular con preferencia a cualquier otra. - (7).

La vacunación única con V.I.E.A., en el grupo III sugiere que el antígeno mantuvo un estímulo continuo durante 50 días aunque este haya sido de menor intensidad que en los otros grupos.

## R E S U M E N

Este trabajo se inició comprando 80 pollos y formando 4 grupos de 20 pollos cada uno, aislados y separados en gallineros a una distancia de no menos de 2 kms., en línea recta. En seguida a los trece días de edad se procedió a tomar una muestra de sangre a cada uno de los 80 pollos -- para poder observar por medio de la prueba (HI) la lectura de títulos de anticuerpos de la E.M.C. Para después a los 15 días de edad hacer la primera vacunación y posteriormente combinar la vacunación con la toma de muestras serológicas para llevar a cabo la valoración de la inmunidad que se obtuvo con los programas mencionados anteriormente.

Se compararon tres diferentes programas de vacunación contra la enfermedad del Newcastle. A base de virus vivo -- modificado el primero, el segundo a base de la combinación de virus vivo y (V.I.E.A.) virus inactivado emulsionado en aceite. Y el tercero con V.I.E.A.) virus inactivado emulsionado en aceite. Con los tres programas se obtuvieron niveles de anticuerpos adecuados para el logro de inmunidad -- siendo mayor el que combinó a los dos tipos de vacuna (Grupo II)

## C O N C L U S I O N E S .

Analizando los tres programas que se probaron, podemos decir:

1. El Programa No. 2 fue el que mejor resultado dió a la hora de la lectura en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI).
2. El programa No. 1 también tuvo una lectura alta, pero esto no quiere decir que estos 2 programas sean los adecuados a llevar a cabo, sino por lo contrario, serán adaptados según las circunstancias del lugar, en el cual se vaya a llevar a cabo un calendario de vacunación contra la E.N.C.

## B I B L I O G R A F I A

1. BRANDLY, C.A., H.E. Moses, and E. D. UNGHERR 1946  
*Transmission of antiviral activity via the egg and the role of congenital Passive Immunity to Newcastle disease in chickens.*  
*Am j. Vet. Research*, 7: 333-342.
2. GOMEZ LLANOS MORALES VICTOR MANUEL  
*Tesis Profesional. Aspectos Sanitarios 1975.*
3. MEMORIAS DEL CURSO DE ACTUALIZACION. SOBRE EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN MEXICO 1975 (AMECA)  
Olvera, M. *Enfermedad del NEWCASTLE Tesis.*
4. P.W. Chang. J.J. Yates, J.A. Pendlector, and T.D. Flanagan 1969 *Immune response of chickens to six strains of Newcastle disease virus as 1969 measured by hemagglutination - Inhibition test.* *Avian Dis* (13) 1.46-52 1969.
5. S.B. Hitchner. *NEWCASTLE DISEASE VIRUS. An Evolving Pathogen* R.P. Hanson the University of Wisconsin Press 85-96 1964.  
Von Ziegler Nava.



6. *Tesis Profesional. Contribución al estudio comparado de métodos para diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Newcastle. 1954.*
7. Zakay - Rones, Z., Levy, and G. Spira. *Secretory Newcastle disease Virus antibodies From chicken respiratory tract. J. Immunol 109: 311-316 1972.*
8. Zichiriza Zakay - Rones and Levy *Immunologist --- response of chicks to inactivated Newcastle disease virus. A viandis (17) 3 450-452 1973.*