

# Propiedades antigénicas de cepas lentogénicas de virus Newcastle. Cálculo de dosis protectora de 50% pollo<sup>1</sup>

Sergio Rosende O.<sup>2</sup>, Héctor Hidalgo O.<sup>2</sup> y Enrique Bergqvist A.<sup>3</sup>

## INTRODUCCION

En el brote epidémico de la Enfermedad de Newcastle (ENC), detectado en Chile en 1974 (Servicio Agrícola y Ganadero, 1974), afectando un alto porcentaje de la población avícola, ésta se presentó aun en aves inmunizadas con vacunas elaboradas en base a virus inactivado o virus vivo (cepas lentogénicas). La enfermedad se presentó, además, en especies silvestres hasta el momento no reportadas como sensibles a la enfermedad (Hidalgo y Rosende, 1973). Estos antecedentes concuerdan con la información extranjera en relación a quiebres de inmunidad en aves comerciales y diagnóstico de ENC en otras aves (Butterfield *et al.*, 1973) (Hanson *et al.*, 1973).

Como una forma de acumular antecedentes sobre la capacidad antigénica e inmunogénica de cepas lentogénicas vacunales para ENC, se diseñó esta experiencia basada en trabajos sobre Cálculo de la Dosis Protectora 50% (DP50) para vacunas contra fiebre aftosa (Mackowiak *et al.*, 1966) (Roumiantzeff *et al.*, 1965) (Terre *et al.*, 1965) y vacunas inactivadas para ENC (Andrade, 1968) (Box *et*

*al.*, 1970), utilizándose como virus de confrontación el aislado de ENC obtenido de aves enfermas en el brote mencionado anteriormente (Hidalgo y Rosende, 1973).

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 260 pollos broilers de un día de edad, distribuidos al azar en 13 tratamientos de 20 pollos cada uno.

En la experiencia se emplearon 3 cepas lentogénicas vacunales: Cepa B<sub>1</sub>-Hitchner (comercial), cepa La Sota (comercial) y cepa Palo Alto<sup>4</sup> (experimental). Las vacunas tenían un título de  $1 \times 10^8$  dosis infectante 50% embrión (DI50E) por dosis. El diluyente usado en las vacunas fue Buffer Fosfato Salino (PBS).

Los pollos fueron vacunados a los 25 días de edad, una vez que los anticuerpos maternos se encontraban en una cantidad no significativa (Higgins, 1971). La aplicación de la vacuna se efectuó vía intraocular en todos los casos. Cada una de las vacunas a probar se aplicaron de acuerdo al siguiente esquema experimental:

Dilución de la vacuna	Título de la vacuna/dosis	Nº de aves inoculadas	Vía de inoculación
1. Sin diluir	10 <sup>8</sup> DIE50	20	Intraocular
2. 1 : 10	10 <sup>6</sup> DIE50	20	"
3. 1 : 100	10 <sup>4</sup> DIE50	20	"
4. 1 : 1000	10 <sup>2</sup> DIE50	20	"

<sup>1</sup>Recepción originales: 22 de septiembre de 1976.

<sup>2</sup>Méds. Vets., Departamento de Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile. Casilla 13, Correo 15, Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Méd Vet., M. S., Programa Producción Avícola, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Casilla 10, La Granja, Santiago, Chile.

<sup>4</sup>Cepa NPA, Palo Alto, obtenido de Laboratorios Veterinarios Aliados S.A., México.

Un grupo de 20 pollos constituye los controles no vacunados.

La respuesta inmunitaria de las aves a las diferentes vacunas se midió a través de dos criterios. Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (IHA) y Resistencia al Desafío. Para IHA se usó la técnica beta, indicada por Cunningham (1959). Las aves se sangraban a los 24 días de edad, 1 día antes de la vacunación y a los 44 días de edad, 1 día antes del desafío con una cepa virulenta de campo. La sangría se efectuó por función cardíaca.

La Resistencia al Desafío se efectuó 20 días después de la vacunación, en todos los grupos que se señalan en el esquema experimental, mediante la inoculación intramuscular de  $2 \times 10^5$  Dosis Letales embrión 50% (DIE50) de la cepa velogénica N° 578 (Hidalgo y Rosende, 1973) en 0,5 ml de PBS. El grado de protección logrado en cada caso se expresó como la Dosis Protectora 50% Pollo (DP50P) por dosis y se calculó de acuerdo al método de Reed-Muench (Reed y Muench, 1938). Se evaluó sólo la protección contra mortalidad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de Título IHA (expresado como la media geométrica para cada grupo), Índice de protección al desafío y DP50P de las 3 vacunas estudiadas.

De acuerdo a los resultados obtenidos (Cuadro 1), las 3 cepas lentogénicas vaccinales: B<sub>1</sub> (Hitcher), La Sota y Palo Alto, proporcionan 320 DP50P por dosis señalando una capacidad inmunogénica y de protección semejante para cada una de ellas. Las DP50P por dosis obtenidas con estas vacunas vivas a cepas lentogénicas es claramente superior a las 60 DP50P por dosis obtenidas con vacuna inactivada para ENC por Andrade (1968). Este adecuado índice de protección, similar para las cepas vaccinales B<sub>1</sub> y La Sota, en uso antes y durante la epidemia de ENC descrita en el país (Servicio Agrícola y Ganadero, 1974) hace pensar que por lo menos parte de los quiebres inmunitarios que se presentaron se deberían a fallas en el manejo y aplicación

Cuadro 1 — Título de IHA, índice de protección al desafío y DP50P, de 3 vacunas a cepas lentogénicas.

Cepa	Dilución vacuna	DI50E x dosis	N° de pollos	I. H. A. <sup>1</sup>		Índice de protección frente a $2 \times 10^5$ DI50E de desafío <sup>2</sup>	DP50P x dosis
				1ª sangría 24 ds. edad	2ª sangría 44 ds. edad		
La Sota	S/diluir	10 <sup>6</sup>	20	— 5	226	19/19 <sup>3</sup> — 100%	320
	1 : 10	10 <sup>5</sup>	20	— 5	160	19/19 — 100%	
	1 : 100	10 <sup>4</sup>	20	— 5	40	20/20 — 100%	
	1 : 1000	10 <sup>3</sup>	20	— 5	0	1/18 — 5,5%	
Palo Alto	S/diluir	10 <sup>6</sup>	20	— 5	226	20/20 — 100%	320
	1 : 10	10 <sup>5</sup>	20	— 5	160	16/19 — 84,2%	
	1 : 100	10 <sup>4</sup>	20	— 5	10	9/20 — 45,0%	
	1 : 1000	10 <sup>3</sup>	20	— 5	0	13/19 — 68,4%	
B <sub>1</sub>	S/diluir	10 <sup>6</sup>	20	— 5	57	17/18 — 94,4%	320
	1 : 10	10 <sup>5</sup>	20	— 5	57	18/19 — 94,7%	
	1 : 100	10 <sup>4</sup>	20	— 5	14	18/20 — 90,0%	
	1 : 1000	10 <sup>3</sup>	20	— 5	0	4/20 — 20,0%	
Grupo no vacunado	—	—	20	— 5	— 5	0/20 — 0,0%	—

<sup>1</sup>Título de IHA expresado como la media geométrica para cada grupo.

<sup>2</sup>Numerador: N° de aves sobrevivientes al desafío. Denominador: N° de aves sometidas al desafío.

<sup>3</sup>El número de pollos menor a 20 en algunos grupos, al momento de efectuarse el desafío, se debe a mortalidad inespecífica.

de inadecuadas pautas de vacunación y una baja tasa de inmunidad de masa, más que una deficiencia inmunogénica de estas cepas vaccinales.

Los niveles de anticuerpos IHA, no reflejaron la real resistencia de las aves al agente patógeno y sólo sirvió como indicador cualitativo y parcial de la respuesta inmunitaria ante diferentes cantidades de DIE50 del antígeno viral.

Respecto a la concentración de virus vacinal necesaria para conferir adecuada inmunidad, se presentaron por bajo  $10^5$  DI50E por dosis, porcentajes variables de mortalidad, lo

que concuerda con referencias extranjeras que establecen un mínimo de  $10^6$  DI50E por dosis (Allan *et al.*, 1973).

### CONCLUSIONES

No hubo diferencias entre las cepas lentogénicas vaccinales: B<sub>1</sub>, La Sota y Palo Alto en términos de DP50P por dosis, para aves desafiadas con la cepa patógena de campo descrita.

La tasa de anticuerpos IHA no reflejó la real resistencia de las aves al desafío, después del estímulo vacinal, y sólo fueron un indicador parcial de la respuesta inmune.

### R E S U M E N

Las cepas lentogénicas: B<sub>1</sub> (Hitcher), La Sota y Palo Alto del virus de la Enfermedad de Newcastle fueron utilizadas como único estímulo vacinal en pollos broilers de 25 días de edad.

La capacidad antigénica de ellas se expresó como la Dosis Protectora 50% Pollo (DP50P) y se calculó después del desafío con una cepa velogénica. Las 3 cepas vaccinales proporcionaron 320 DP50P por dosis.

Los anticuerpos inhibidores de la Hemoaglutinación (IHA) no fueron un índice confiable del grado de protección de estas aves al desafío.

### S U M M A R Y

#### ANTIGENIC PROPERTIES OF NEWCASTLE VIRUS LENTOGENIC STRAINS. DETERMINATION OF THE 50% CHICK PROTECTIVE VALUE

The lentogenic strains of the Newcastle disease virus: B<sub>1</sub> (Hitcher), La Sota and Palo Alto were used to immunize 25-day-old broiler chickens as a single dose. After 20 days they were challenged with a velogenic isolate intramuscularly.

The chick protective dose 50 per cent (CPD50) value of each vaccine strain was shown to be 320 per intraocular dose. The hemagglutinating inhibiting (HI) antibody titer were not directly related to protection.

### LITERATURA CITADA

- ALLAN, W. H., LANCASTER, J. E. and TOTH, B. 1973. The production and use of Newcastle disease vaccines. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- ANDRADE, C. H. 1968. Ensayo preliminar de una prueba de potencia en vacuna Newcastle inactivada. Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria. Universidad de Chile (Tesis Méd. Vet., mimeografiada).
- BOX, P. G., HELLIWELL, B. I. and HALLIWELL, P. H. 1970. Newcastle disease in turkeys. Determination of the 50 percent lethal dose of the Herts (1933) Weybridge strain of Newcastle disease virus and the potency of the B.P.L. inactivated Newcastle disease vaccine in turkeys. *Vet. Rec.* 86:524-527.
- BUTTERFIELD, W. K., DARDINI, A. H. and YEDLOUTSCHNIG, R. J. 1973. Protection of chickens afforded by commercial lentogenic vaccines against challenge exposure to velogenic Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 17 (2):279-282.
- CUNNINGHAM, Ch. 1959. *Virología Práctica*. Ed. Editora Acríbia, 177 p.
- HANSON, R. P., SPALATIN, J. and JACOBSON, G. S. 1973. The viscerotropic *pathotype* of Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 17 (2):354-361.

- HIDALGO, H. y ROSENDE, S. 1973. Antecedentes bibliográficos de la enfermedad de Newcastle, hallazgo de dicho agente viral en 2 ejemplares de aves silvestres chilenas. Boletín Ornitológico. Comité de Ciencias del Instituto Chileno Norteamericano de Cultura, Año v, (1):8-10.
- HIGGINS, D. A. 1971. Vaccination response of parentally immune chicks after yolk-sac inoculation of the embryo with inactivated Newcastle virus. Avian Dis. 15:98-101.
- MACKOWIAK, C., FONTAINE, J., TERRE, J., STELMANN, C., ROUMIANTZEFF, M. and PETERMAN, H. G. 1966. Contrôle quantitatif du vaccin anti-aphteux. Etude de la loi dose-effect et agrelation entre les doses vaccinales 50% chez les cobayes et les bovines. Bull. O.I.E. 65:131-171.
- SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. Ministerio de Agricultura. 1974. Programa Decenal de Salud Animal. 4 v.
- REED, L. Y. and MUENCH, H. 1938. A simple method of estimating fifty percent end point. Amn. J. Hyg. 27 (3):493.
- ROUMIANTZEFF, M., FONTAINE, J., STELMANN, C. and MACKOWIAK, C. 1965. Contrôle quantitatif du vaccin anti-aphteux. II. Détermination de la dose vaccinale 50% chez le cobaye. Rev. Med. Vet., 116 (8-9):597.
- TERRE, J., BORNAREL, P., STELMANN, C. and SOULEBOT, J. P. 1965. Contrôle quantitatif du vaccin anti-aphteux. Détermination de la dose vaccinale 50% chez le bovin. Rec. Med. Vet., 141:1109.