



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
CUAUTITLAN

EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD Y
OTRAS PROPIEDADES FISICAS Y BIOLOGICAS
DE DIFERENTES VIRUS VACUNALES CONTRA
LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE.

T E S I S

Que para obtener el Titulo de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

p r e s e n t a

J. FRANCISCO MOLINA ALVARADO

ASESORES:

M.V.Z., PH. D. JESUS ARIAS IBARRONDO

M.V.Z., MS. C. RAUL MAR CRUZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

I. INTRODUCCION

II. MATERIAL Y METODOS

III. RESULTADOS

IV. DISCUSION

V. BIBLIOGRAFIA

I. INTRODUCCION

A partir de 1948, año en que Olivera registró la muerte de trescientas mil gallinas en el Distrito Federal, la enfermedad de Newcastle (EN) ha representado un problema muy serio para la avicultura mexicana (32).

En 1951, otro brote causó grandes pérdidas, ya que pasaron de cuatrocientas mil las aves muertas solo en el Distrito Federal y sus alrededores. Las aves atacadas estornudaban, tosen y boqueaban; manifestaban una diarrea verdosa y presentaban signos nerviosos. En este brote la mortalidad se aproximó al 90% (19).

Durante los últimos años de la década 1941-50 y a principio de la década subsiguiente, se hicieron tentativas en México para combatir la EN mediante el uso de vacunas inactivadas importadas de los Estados Unidos o producidas en México. A principios de 1950, un número pequeño de avicultores, comenzó a usar vacunas vivas capae Roakin o B₁. El uso de la capa B₁ se difundió ampliamente durante este año y los siguientes. Estas vacunas fueron importadas de los Estados Unidos sin control de calidad por parte de las autoridades mexicanas, y el Newcastle siguió siendo un problema hasta 1960.

En los comienzos de la década 1960-70, se empleó la capa La Sota de virus de Newcastle, aunque los brotes de EN seguían ocurriendo, y muchos de ellos se debían a que no se habían vacunado las aves o a causa de los bajos títulos de las vacunas (19).

Desde 1969 a la fecha, el número de brotes de la enfermedad de Newcastle ha ido en aumento en el Valle de México y sus alrededores, presentándose un gran número de ellos en aves que han sido vacunadas una y en ocasiones dos veces o más (33).

En los últimos cuatro años, se han reportado en la República Mexicana más de tres mil quinientos casos de EN. Sólo esta cifra da una idea del problema que enfrenta la industria avícola, porque muchos avicultores y veterinarios no se toman el trabajo de llevar las aves al laboratorio de diagnóstico cuando muestran indicios clásicos de Newcastle. Desgraciadamente, no hay cifras exactas que indiquen cuál es la pérdida económica a causa del Newcastle en México (19).

En México se han reportado los cuatro tipos de EN registrados por Hanson :

- 1.- La forma Doyle, primero reconocida en 1926 (12), es una infección aguda y letal para aves de todas las edades. Las úlceras y hemorragias en el tracto digestivo son una característica patológica predominante. Se le ha llamado también EN asiática y es causada por las denominadas cepas velogénicas viscerotropas.
- 2.- La forma Beech de la enfermedad, descrita 15 años más tarde (3) se caracteriza por producir signos respiratorios y nerviosos en aves de cualquier edad, así como lesiones en el tracto respiratorio y en el sistema nervioso. No se encuentran hemorragias en el tracto digestivo.

Esta presentación fue inicialmente llamada enfermedad respiratoria nerviosa o pneumoencefalitis y es causada por ciertas cepas velogénicas.

- 3.- La forma Beaudette reconocida unos pocos años más tarde (4) es una infección respiratoria aguda y letal solo para pollitos de menos de cuatro semanas de edad, en los que también produce lesiones nerviosas. En gallinas adultas la mortalidad es rara, produciendo, si acaso, una infección respiratoria.
- 4.- La forma Hitchner, la última en ser descrita (15) es causa de un problema respiratorio leve e inaparente que difícilmente produce mortalidad en aves sanas. Su principal importancia radica en que al vacunar aves infectadas con *Mycoplasma gallisepticum* y *Escherichia coli* existe alta predisposición de los animales a contraer otro tipo de enfermedad muy frecuente en México: la Enfermedad Respiratoria Crónica (ERC) (17).

En México, como ya se mencionó, frecuentemente se reportan brotes en la EN en aves, que a pesar de ser vacunadas una y en ocasiones dos veces o más padecen la enfermedad en sus distintas presentaciones (33).

Entre las principales causas de este problema que mucho preocupa no sólo a los avicultores sino también a los investigadores se dan las siguientes:

- a) Deficiencia en la elaboración de las vacunas en los laboratorios (33).
- b) Mal manejo de la vacuna, desde la salida del laboratorio hasta su administración a las aves (33).
- c) Presencia de aflatoxinas en los animales que causan inmunodepresión y por lo tanto fallas en la vacunación (16).
- d) Presencia de agentes secundarios como mycoplasma y E. coli que agudizan los brotes de la enfermedad (17).
- e) Heterogeneidad en las cepas de virus de la EN tanto en su comportamiento en cultivos celulares como en las propias aves, pudiendo existir variaciones en cuanto a patogenicidad dentro de una misma cepa (8, 9, 10, 18, 23, 24, 25).
- f) Presencia del virus de la bolsa de Fabricio que causa inmunodepresión en las aves (2).

Dentro de las vacunas de virus vivo más conocidas en nuestro país, tenemos las preparadas mediante poblaciones de virus de cepa La Sota y cepa B₁, ambas pertenecen al tipo benigno (lentogénicas).

Mediante numerosas publicaciones realizadas por investigadores, ha quedado de manifiesto que la cepa La Sota es más patógena que la cepa B₁ (7, 14, 26, 31).

La predisposición de las aves, a sufrir ERC, aumenta considerablemente al utilizar la primera cepa; esto, sumado a la alta mortalidad que puede alcanzarse en pollitos, ha motivado a que en México algunos avicultores, utilicen con cierta desconfianza vacunas provenientes de algunos laboratorios comerciales*.

Uno de los detalles que motivó a realizar este experimento es que en la literatura revisada se afirma, que definitivamente pueden existir poblaciones heterogéneas de virus dentro de una misma cepa que tiene la ventaja de ser menos irritante hacia las aves, con la consecuente menor predisposición de las mismas, a sufrir complicaciones secundarias y menor porcentaje de mortalidad (17). Este dato se complementó mediante comunicaciones personales, de gente que continuamente realiza vacunaciones con productos elaborados con cepa La Sota virus vivo**.

* M.V.Z., Msc. Hugo Medina Ramos (Comunicación personal).

** M.V.Z., Msc. Hugo Medina Ramos (Comunicación personal).

Algunas de las formas para conocer que dentro de una misma vacuna están involucradas poblaciones heterogéneas de virus son las siguientes, haciendo hincapié que ello no implica necesariamente virulencia:

- 1) *Termoestabilidad de la hemaglutinina (31)*
- 2) *Tiempo de aglutinación de eritrocitos (31)*
- 3) *Agglutinación de eritrocitos de diversas especies animales (31)*

En numerosos trabajos llevados a cabo (Hanson et al) se ha establecido que es posible diferenciar grados de patogenicidad mediante diversas pruebas, dos de las cuales consisten básicamente en:

- a) *Calcular el índice de patogenicidad intracerebral (IPIC) en pollos libres de patógenos específicos (SPF) de 24 horas de nacidos (20, 28, 31).*
- b) *Calcular el tiempo medio de mortalidad (TMM) en embriones de pollo de 10 días de desarrollo (20, 31).*

Para determinar la heterogeneidad de las vacunas cepa La Sota producidas en México, se emplearon las pruebas 1, 2 y 3, y para determinar el grado de patogenicidad se efectuaron las pruebas a y b.

II. MATERIAL Y METODOS

Virus: El virus de la EN usado para el experimento fue obtenido de vacunas comerciales adquiridas en farmacias veterinarias y con distribuidores mayoristas (ocho vacunas cepa La Sota y una B₁ de referencia). Todas las vacunas fueron resuspendidas en su diluyente original y envasadas en frascos ampula con un ml, manteniéndolos en congelación a -70°C para su posterior uso.

Todos los virus de la EN provenientes de las vacunas fueron titulados de acuerdo a la técnica descrita en "Methods for Examination of Poultry Biologics", pag. (79-82) y el cálculo hecho de acuerdo al método descrito por Reed and Muench (21).

Pollos: Se utilizaron huevos fértiles provenientes de animales SPF (Donación de Salisbury Laboratories, México, S.A. de C.V.), dichos animales susceptibles fueron utilizados de 24 horas de nacidos únicamente. Para el cálculo del IPIC se inoculó 0.05 ml de cada una de las vacunas restituidas en su diluyente original por vía intracerebral a cada uno de los 10 pollos; se observaron diariamente los animales, durante 8 días y se anotó en los registros la condición individual de cada ave. Dados los signos de la enfermedad se asignaron los siguientes valores numéricos: muerte 2, signos 1, normal 0, el índice fue calculado de acuerdo con el método descrito en "Methods for Examination of Poultry Biologics" (pág. 75-77) (20).

Embriones: Para este experimento se usaron embriones provenientes de incubadora comercial, para calcular el TMM, se utilizaron embriones de 10 días únicamente, la vía de inoculación fue cavidad alantoides; se prepararon diluciones de virus (10^{-1} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9}), se inocularon 10 embriones con cada una de las mismas con dosis de 0.1 ml de vacuna restituida y diluida a cada uno de los embriones, los embriones fueron ovoscopiados con períodos de 8 horas durante 6 días. El cálculo fue llevado a cabo de acuerdo al método recomendado en "Methods for Examination of Poultry Biologics" (71, 75, 76) (20).

Pruebas Físico-Biológicas:

- a) Termoestabilidad de la hemaglutinina. Cinco frascos ampula conteniendo un ml de vacuna restituida, fueron sumergidos en baño maría a 56°C, cada uno de los frascos fue removido a intervalos de un minuto, e introducidos inmediatamente a un recipiente conteniendo agua con hielo; de cada uno de los líquidos contenidos en los frascos se llevaron a cabo pruebas de hemaglutinación por

los métodos rutinarios establecidos en : *Methods for Examination of Poultry Biologics* Pág. (79-82) (20).

- b) *Aglutinación de eritrocitos de diferentes especies animales.* Para esta prueba, se obtuvo sangre de bovino, equino, y ave, utilizando como anticoagulante solución de Alsever's, los eritrocitos fueron lavados con solución buffer de fosfatos por dos ocasiones, con el objeto de obtener glóbulos rojos libres de detritus y contaminantes; ya obtenido el paquete de glóbulos rojos se procedió a utilizarse para las pruebas de hemoaglutinación en concentración de 0.5 .

Con todos los virus provenientes de las vacunas, pruebas de hemoaglutinación fueron llevadas a cabo, realizando diluciones dobles de dichos virus, como se recomienda en "*Methods for Examination of Poultry Biologics*" (79-82) (20).

- c) *Tiempo de elución de eritrocitos.* Para determinar el tiempo de elución de cada uno de los virus provenientes de las vacunas, pruebas de hemoaglutinación con glóbulos rojos de ave fueron llevadas a cabo por los métodos rutinarios recomendados en "*Methods for Examination of Poultry Biologics*" (pág. 79-82) (20), realizando de igual forma diluciones dobles de virus. Todos los tubos en los cuales se llevaron a cabo dichas pruebas fueron llevados a temperatura de refrigeración para posteriormente determinar el tiempo de elución (1).

III. RESULTADOS

Virus: Los títulos obtenidos en las diferentes vacunas variaron ampliamente, encontrándose que tres de ellas tienen títulos superiores a $10^{8.3}$, tres con títulos de $10^{8.0}$, dos con títulos de $10^{7.8}$ y $10^{7.0}$, y una con título de $10^{6.0}$, no cumpliendo ésta última con los requerimientos establecidos por la Dirección General de Sanidad Animal S.A.R.H. (11) (Cuadro 1).

Pollos: El índice de patogenicidad intracerebral varió en gran escala, encontrándose una vacuna con un índice de patogenicidad de casi 0.5, a diferencia de otra vacuna en la cual el índice obtenido fue inferior a la cepa B₁ utilizada como referencia (Cuadro 2).

Embriones: El tiempo medio de mortalidad encontrado para las diferentes cepas de virus vacunales correspondieron totalmente en los rangos de tiempo establecidos para las cepas lentogénicas (20, 31), encontrándose que únicamente una cepa vacunal mostró un tiempo superior al establecido para las cepas lentogénicas, y aún más para el tiempo establecido para la cepa La Sota, el cual es aproximadamente de 104 hz. más o menos (Cuadro 3).

Pruebas Físico-Biológicas:

a) Termoestabilidad de la hemaglutinina.

En general todas las cepas vacunales se comportaron estables cuando fueron sometidas a temperatura de 56°C, encontrándose solo una de ellas que a los dos minutos no mantuvo su estabilidad (Cuadro 4).

b) Aglutinación de eritrocitos de diferentes especies.

Todas las cepas vacunales probadas se comportaron de acuerdo a las propiedades de cada cepa (La Sota y B₁), encontrándose que todas las vacunas en las cuales se mencionaba que poseen poblaciones de virus cepa La Sota, aglutinó glóbulos rojos de bovino, equino y ave, a diferencia de la Cepa B₁, la cual no aglutinó eritrocitos de equino (Cuadro 5).

c) **Tiempo de elución de eritrocitos.**

El tiempo de elución de eritrocitos para las diferentes cepas vacunales La Sota probadas fue comparado con los datos encontrados en la literatura y se encontró que todas las cepas mantuvieron un tiempo de elución lento a diferencia de la cepa utilizada de referencia (B-γ), la cual observó un tiempo de elución rápido (Cuadro 6).

CUADRO 1

TITULOS OBTENIDOS EN LAS DIFERENTES VACUNAS COMERCIALES A VIRUS LIOFILIZADO CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE (DIE 50 ml)

	No. de dosis	
Vacuna No. 1*	500	$10^{8.6}$
Vacuna No. 2*	100	$10^{7.0}$
Vacuna No. 3	100	10^9
Vacuna No. 4*	100	$10^{8.6}$
Vacuna No. 5*	100	10^9
Vacuna No. 6*	100	10^6
Vacuna No. 7*	100	10^9
Vacuna No. 8*	500	$10^{8.4}$
Vacuna No. 9**	500	$10^{7.9}$

* Cepa La Sota
 ** Cepa B₁

CUADRO 2

**INDICES DE PATOGENICIDAD INTRACEREBRAL OBTENIDOS EN LAS
DIFERENTES VACUNAS COMERCIALES CONTRA LA ENFERMEDAD
DE NEWCASTLE**

	IPIC
Vacuna No. 1*	0.15
Vacuna No. 2*	0.37
Vacuna No. 3*	0.47
Vacuna No. 4*	0.29
Vacuna No. 5*	0.25
Vacuna No. 6*	0.32
Vacuna No. 7*	0.12
Vacuna No. 8*	0.07
Vacuna No. 9**	0.11

* Cepas La Sota
** Cepa B₁

CUADRO 3

TIEMPO MEDIO DE MORTALIDAD DE LA DOSIS LETAL MINIMA OBSERVADO PARA LAS DIFERENTES VACUNAS COMERCIALES CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE (HORAS)

	TMM
Vacuna No. 1*	102.4
Vacuna No. 2*	96
Vacuna No. 3*	99.2
Vacuna No. 4*	100.8
Vacuna No. 5*	96.8
Vacuna No. 6*	122.0
Vacuna No. 7*	107.2
Vacuna No. 8	112.0
Vacuna No. 9**	120.8

*** Cepa La Sota**

**** Cepa B₁**

CUADRO 4

**TERMOESTABILIDAD DE LA HEMAGLUTININA DE LAS DIFERENTES CEPAS VACUNALES
COMERCIALES CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE**

	Tiempo (Minutos)					
	0	1	2	3	4	5
Vacuna No. 1*	1:80	1:80	1:80	NE	NE	NE
Vacuna No. 2*	1:80	1:80	1:80	NE	NE	NE
Vacuna No. 3*	1:160	1:160	1:160	NE	NE	NE
Vacuna No. 4*	1:40	1:40	1:40	NE	NE	NE
Vacuna No. 5*	1:20	1:20	1:20	NE	NE	NE
Vacuna No. 6*	1:10	1:10	NE	NE	NE	NE
Vacuna No. 7*	1:40	1:40	1:40	NE	NE	NE
Vacuna No. 8*	1:80	1:80	1:80	NE	NE	NE
Vacuna No. 9**	1:80	1:80	1:80	NE	NE	NE

* Cepa La Sota

** Cepa B₁

NE No estable

CUADRO 5

**COMPORTAMIENTO DE LAS DIFERENTES CEPAS VACUNALES FRENTE A
GLOBULOS ROJOS DE DIFERENTES ESPECIES**

	<i>Globulos Rojos</i>		
	<i>Ave HA</i>	<i>Bovino HA</i>	<i>Equino HA</i>
<i>Vacuna No. 1*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 2*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 3*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 4*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 5*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 6*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 7*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 8*</i>	+	+	+
<i>Vacuna No. 9**</i>	+	+	-
<i>* Cepa La Sota</i>			
<i>** Cepa B₁</i>			

IV. DISCUSION

Al llevar a cabo un análisis de los resultados obtenidos para todos los diferentes virus provenientes de las capas vacunales, podemos observar que en general, la mayoría de las vacunas contra la EN, salen de los laboratorios con títulos superiores a los establecidos por la Dirección General de Sanidad Animal, S.A.R.H.

Con anterioridad se han realizado trabajos, en los cuales ha quedado demostrado que las vacunas al salir de los laboratorios, poseen títulos altos y que al llegar con los distribuidores mayoristas, a las farmacias veterinarias y con los avicultores, estas vacunas poseen, en muchos de los casos, títulos inferiores a los establecidos (33), esto se ha podido comprobar que es causado por el mal manejo que se les brinda a las vacunas.

De lo anterior podemos pensar, que en general las vacunas al salir de los laboratorios se encuentran en condiciones favorables de inducir buena inmunidad a las aves, y que, si esta inmunidad no se lleve a cabo puede ser debido a que no se maneja adecuadamente a las vacunas cuando se aplican a los animales.

Uno de los puntos a considerar en el buen manejo de las vacunas es la ruta de vacunación empleada; si pensamos como ruta de vacunación aerosoles, debemos de tomar en cuenta la edad de los animales, ya que en experimentos realizados por Villegas y Kleven en 1975 quedó demostrado que utilizando esta vía se incrementa la incidencia de aeroculitis en pollos, esto favorece a algunos agentes secundarios como mycoplasma y E. coli para que se hagan manifiestos y de esta manera desencadenar brotes de la enfermedad (30).

Por otro lado considerando la vacunación por ruta intraocular, debemos también tomar en cuenta el tiempo de detención del ave tras la vacunación, ya que se ha llegado a comprobar por estudios realizados por el Dr. Benjamín Lucio (14) que se puede llegar a desperdiciar hasta un 80% de la vacuna al liberar a las aves inmediatamente después de la vacunación. Esto ocasiona que las aves no reciban suficiente cantidad de antígeno viral, dando como resultado una baja inmunidad en las aves vacunadas; de tal manera que si se llegara a presentar un brote de la enfermedad en este tipo de animales, estos quedarían susceptibles a la enfermedad. Por lo que se recomienda llevar a cabo métodos adecuados de vacunación, aumentando las posibilidades de que los animales posean altos niveles de anticuerpos circulantes, y por lo tanto menor riesgos de contraer la enfermedad en la parrada.

También se ha encontrado que a pesar de tener los animales títulos considerables de anticuerpos humorales, es difícil proporcionar inmunidad completa contra los virus que infectan las células que cubren el tracto respiratorio. Esto podría ser comparable al mecanismo de infección por Influenza en el hombre, y de igual manera a la EN en las gallinas (6).

En relación a los resultados obtenidos por los índices de patogenicidad intracerebral en los pollos, si correspondieron ampliamente a los rangos de patogenicidad establecidos para las cepas lentogénicas, dichos rangos varían desde 0 hasta 0.5 (28), pudiendo llegar a encontrarse rangos hasta de 1.04 si son utilizados pollos SPF recién nacidos o de 24 horas de edad. Por este razón se recomienda para que la prueba sea válida, se utilicen animales de 24 horas de nacidos. Otro factor que puede alterar esta prueba es el utilizar animales no libres de anticuerpos contra la EN, ya que estos anticuerpos pueden alterar la prueba y darnos resultados falsos de patogenicidad.

En este experimento se utilizaron animales provenientes de embriones SPF, y durante el curso del mismo, se observó que los animales al igual que en los brotes post-vacunales que se presentan en pollitos tuvieron una alta morbilidad con igual sintomatología respiratoria; se encontraron rangos de patogenicidad similares (Cuadro 2), dichos rangos variaron desde 0.07 hasta 0.47; cabe mencionar que la vacuna que obtuvo el índice de patogenicidad más alto (número 3), casi se encuentra en los límites superiores de patogenicidad para esta cepa (28). Este es la razón por la que no se recomienda el usar la cepa La Sota en pollos recién nacidos.

A diferencia de ésta, se observó que la vacuna número 9, obtuvo un índice de patogenicidad menor a la cepa B₁ utilizada como referencia, quedando la duda de si pudieran existir grados de patogenicidad para cepas vacunales B₁.

Se ha observado que al igual que para los pollos, en los embriones también puede verse alterado el tiempo medio de muerte si no se utilizan embriones SPF.

De la misma manera se ha comprobado que cuando no se utilizan embriones con estas características, es sumamente importante considerar la edad a la cual sean inoculados, observándose que la edad óptima para ser utilizados es de 9 a 11 días, ya que si se utilizan embriones de mayor edad, el TMM puede retrasarse debido a que en esa edad poseen altos niveles de anticuerpos contra el virus. Por lo que existe mayor resistencia del embrión hacia el mismo, a medida que aumenta su edad, pudiendo llegar a ser casi refrac-

tario hacia éste; esto se presenta en especial para las cepas lentogénicas*

Al analizar los tiempos medios de mortalidad en embriones (Cuadro 3), podemos observar que una vacuna, la número 6 tuvo un TMM más largo que la cepa B₁ (vacuna No. 9), observándose además que esta vacuna fue la que más bajo título registró (Cuadro 1). Como explicación a esto, podríamos pensar que, los embriones utilizados para esta prueba fueron procedentes de incubadora comercial, pudiéndose encontrar en los mismos anticuerpos pasivos que retrasarán el tiempo de muerte para dichos individuos. Otra posible explicación es que observando que esta vacuna fue la que presentó más bajo título, se puede plantear como posibilidad, que la concentración de partículas virales era inferior a las demás cepas vacunales probadas, por lo que la replicación de las mismas fue menor, prolongándose así el tiempo de muerte de los embriones.

Al realizar el análisis de las pruebas físico-biológicas llevadas a cabo con los diferentes virus provenientes de las vacunas podemos observar que, la prueba para determinar la termoestabilidad de la hemaglutinina de los diferentes cepas de virus vacunales fue similar a los reportes encontrados en la literatura para el virus de la EN, en las cuales se afirma que las cepas lentogénicas se caracterizan por mantener su hemaglutinina estable a la exposición al calor por un tiempo no mayor a 5 minutos (1, 16). La termoestabilidad de la hemaglutinina de los diferentes virus provenientes de las cepas vacunales fue examinado después de la exposición a 56°C por diferentes períodos (Cuadro 4). La hemaglutinina de todos los virus vacunales analizados se inactivó en 2 minutos al ser sometida a esta temperatura, observándose que únicamente una vacuna demostró mayor labilidad, quedando inactivada su hemaglutinina en un minuto, haciendo hincapié nuevamente que esa vacuna fue la que más bajo título registró.

En lo referente a las pruebas de hemoaglutinación descritas empleando glóbulos rojos de diferentes especies, se demostró al igual que en la prueba anterior, de termoestabilidad la presencia en las vacunas de virus de origen cepa La Sota (Cuadro 5).

Por otra parte, en trabajos llevados a cabo por algunos investigadores se ha demostrado que es posible diferenciar cepas lentogénicas de otras cepas, observando el tiempo de elución de eritrocitos, clasificándose cepas con tiempo de elución lento y cepas con tiempo de elución rápido (29, 31). De esta manera pudimos comprobar que todas las vacunas trabajadas tenían partículas homogéneas de virus cepa La Sota exclusivamente, ya que

* Dr. Jesús Arias Ibarro (Comunicación Personal).

se observó un tiempo de elución mayor a 24 horas (lento), a diferencia de la cepa B₇ utilizada de referencia, la cual demostró tener un tiempo de elución menor de 24 horas (rápido) (Cuadro 6).

Las pruebas de hemoaglutinación, el tiempo de elución, y la determinación de la termoestabilidad de la hemoaglutinina fueron suficientes para demostrar que todos los virus provenientes de las cepas vacunales trabajadas, tuvieron únicamente poblaciones de virus de origen cepa La Sota, no evidenciando aparentemente mezclas de cepas en las vacunas. También pudimos comprobar que la vacuna utilizada como referencia únicamente contenía poblaciones de virus original cepa B₇.

V. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Arias Ibarrodo, J., Mikami, T. *Studies on a Paramyxovirus Isolated from Japanese Sparrow-Hawks (accipiter virgatus gularis). 1. Isolation and Characterization of the virus.* Jap. J. Vet. Sci., 40, 315-323 (1978).
- 2.- Arias Ibarrodo Jesús. *Respuesta inmunológica al virus de la Enfermedad de Newcastle en aves inoculadas con virus de la infección de la bolsa de Fabricio.* Tesis Profesional 1971.
- 3.- Beach J.R. *Avian pneumoencephalitis.* Proc. U.S. Livestock Sanitary Assoc. 46: 203-223. 1942. (Citado por Hanson (30).
- 4.- Beaudette, F.R., and J.J. Black. *Newcastle disease in New Jersey.* Proc. U.S. Livestock Sanitary Assoc. 49: 49-58. 1946. (Citado por Hanson) (30).
- 5.- Beard, C.W. *The use of the egg bit technique for titrating Newcastle disease virus and its antibodies.* Avian Dis. 13: 309-320. 1968.
- 6.- Beard C.W., D.V.M., Ph.D., *Industria Avícola, enero 1975.*
- 7.- Beard, D.P., Spalatin, Josip, and R.P. Hanson. *Strain identification of Newcastle disease virus in tissue culture.* Avian Dis. 13: 636-645. 1970.
- 8.- Charles, H.M., and A.B. Brat. *Noncytopathic mutants of newcastle disease virus.* Journal of Virology, June 1978, 724-729.
- 9.- Daniel, M.D. and R.P. Hanson. *Differentiation of representative Newcastle disease virus by their plaqueforming ability on monolayers of chick embryo fibroblasts.* Avian Dis. 12: 424-433. 1968.
- 10.- Daniel, M.D. and R.P. Hanson. *Isolations and characterization of three plaquestype clones of the Hickman strain of Newcastle disease virus.* Avian Dis. 12: 434-440. 1968.

- 11.- Dirección General de Sanidad Animal. *Requerimientos Mínimos de Calidad que deben tener los productos biológicos de uso Veterinario. Departamento de control de productos biológicos, farmacéuticos y equipo para animales.* 1977.
- 12.- Doyle, T. M. A. hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter passing virus. *J. Comp. Pathol. Therap.* 40: 144-169. 1927 (Citado por Hanson (30).
- 13.- Estupinan, J., and R.P. Hanson. *Methods of isolating six mutants classes from the Hickman strain of Newcastle disease virus.* *Avian Dis.* 15: 798-804. 1971.
- 14.- Stupinan, J., and R.P. Hanson. *Use of yolk sac route of inoculation for titration of lentogenic strains of NDV.* *Avian Dis.* 12: 135-138. 1976.
- 15.- Hitchner, S., and E. P. Johnson. *A virus of low virulence for immunizing fowls against Newcastle disease.* *Vet. Med.* 43: 525-530. 1948. (Citado por Hanson) (30).
- 16.- Hofstad, M.S. (E.D.). 1979. *Diseases of poultry.* Iowa State University. Press. Seventh Edition.
- 17.- *Industria Avícola Revista.* Diciembre, pág. 10-13. 1978.
- 18.- Lomniezi, B. *Properties of non-neurovirulent plaque forming mutants of Newcastle disease virus.* *Avian Dis.* 20: 126-134. 1975.
- 19.- Lucio Benjamín Dr. *Industria Avícola.* Enero 1975.
- 20.- National Research Council, Washington, D.C. U.S.A. 1963. *Methods for examination of poultry biologics.* Publication No. 1038 National Academy of Sciences.
- 21.- Reed, L.J., and Muench, H. *A simple method of estimating fifty percent end points.* *Amer. J. Hyg.*, 27, 493-497. 1938.

- 22.- Renaut, F., Z. y Graich, N., Comparison of the safety and efficacy of two Newcastle disease vaccine virus strains with La Sota strain. *Veterinary Record*. 105, 104-105. 1979.
- 23.- Schloer, G.M., and R.P. Hanson. Plaque morphology of Newcastle disease virus as influenced by cell type and environmental factors. *Amer. J. Vet. Res.* 29: 883-895. 1968.
- 24.- Schloer, G.M. and R.P. Hanson. Relationship of plaque and virulence for chickens of 14 representative Newcastle disease virus strains. *J. Virol.* 12: 40-47. 1968.
- 25.- Schloer, G.M. and R.P. Hanson. Virulence and in vitro characteristics of four mutants of Newcastle disease virus. *J. Infec. Dis.* 124: 289-296. 1971.
- 26.- Spalatin, J. and R.P. Hanson. Evidence of genetic heterogeneity of some lentogenic Newcastle disease virus strains. *Avian Dis.* 20: 654-660. 1976.
- 27.- Spalatin, J., and R.P. Hanson. Observations on transmissibility of lentogenic strains of Newcastle disease virus: Significance of variables. *Avian Dis.* 20: 361-368. 1975.
- 28.- Spalatin, J., and R.P. Hanson. The significance of age of the chick in establishing the ICP Index. *Avian Dis.* 12: 139-141. 1968.
- 29.- Spalatin, J., R.P. Hanson, and P.D. Beard. The hemagglutination elution pattern as marker in characterizing Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 17: 623-628. 1973.
- 30.- Spalatin, J., R.P. Hanson. The viscerotropic Pathotype of Newcastle Disease Virus, *Avian Dis.* 17: 354-361: 1973.
- 31.- Stephen, Hitchner, Domermuth, Charles, Williams, James, Purchase, Graham. Isolation and identification of Avian Pathogens. *The American Association of Avian Pathologists, INC.* 1975.

- 32.- *Universidad Nacional Autónoma de México. Revista Veterinaria. Vol. VII, No. 2. 1976.*
- 33.- *Universidad Nacional Autónoma de México. Revista Veterinaria Vol. VII, No. 3, 1976.*
- 34.- *Villages Pedro, Kleven S.H. and D.P. Anderson. Effect of route of Newcastle disease vaccinations on the incidence of airsacculitis in chickens infected with Mycoplasma synoviae. Avian Dis. 20: 395-400. 1975.*