

N° 152
310



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EFFECTO DE LA DILUCION DE TRES
VACUNAS CONTRA NEWCASTLE SOBRE
SU TITULO FINAL

TRABAJO FINAL ESCRITO DEL III SEMINARIO DE
TITULACION EN EL AREA DE AVES.

Presentado ante la División de Estudios
Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del título de

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Por

BLANCA ARCELIA MARCUE VEGA

Asesores: M.V.Z. Salvador Tavera Carrillo
M.V.Z. Ezequiel Sánchez Ramírez

MEXICO, D. F.

ABRIL DE 1992



TESIS CON
FALLA DE ORDEN



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 está 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.

CONTENIDO

| | página |
|------------------------|--------|
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCION..... | 2 |
| PROCEDIMIENTO..... | 6 |
| RESULTADOS..... | 8 |
| DISCUSION..... | 9 |
| LITERATURA CITADA..... | 10 |
| CUADROS..... | 11 |

RESUMEN

Marcué Vega, Blanca Arcelia. Efecto de la dilución de tres vacunas contra Newcastle sobre su título final: III Seminario de Titulación en Aves (Bajo la supervisión de M.V.Z. Salvador Tavera C. y M.V.Z. Ezequiel Sánchez Ramírez).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el título de 3 vacunas comerciales de Newcastle (Virus activo), a diferentes diluciones 30, 60, y 90 ml. Para ello se utilizaron 450 embriones de pollo comerciales de 10 días de edad, los cuales fueron inoculados por vía cavidad alantoidea, obteniéndose al 5º día de incubación líquido alantoideo para realizar la prueba de hemoaglutinación en placa, realizando posteriormente la prueba de Reed and Muench. Los resultados muestran que a la máxima dilución el título de la vacuna A se ve afectado aproximadamente 1.68 logaritmos y la vacuna B y C se ven afectadas aproximadamente 1.0 logaritmo. El título se mantuvo dentro de los niveles protectivos en la vacuna B y C, sin embargo, en la vacuna A el título fue inferior al considerado como protectivo.

INTRODUCCION

La enfermedad de Newcastle, es producida por un Paramixovirus y tiene prevalencia en muchos países del mundo, incluyendo México (3). Sin embargo, se ha mantenido controlada gracias a la utilización de vacunas.

La producción de vacunas a nivel mundial ha sido motivada principalmente para cubrir la necesidad de brindar protección a poblaciones en riesgo durante posibles brotes epidémicos (5).

El empleo de éstas ha contribuido en gran manera al crecimiento de la industria avícola; así mismo un gran número de laboratorios dedican hoy en día sus investigaciones a la elaboración de biológicos de mayor calidad.

Específicamente un biológico ha sido definido como aquella preparación derivada de microorganismos que estimulan in vivo la producción de anticuerpos elaborada para la protección de un individuo (2).

Existen diversos tipos de biológicos, entre los cuales están: Las vacunas a base de virus activo, vacunas con virus inactivo, bacterinas, toxoides, etc (2).

Los requisitos para que un biológico sea aceptado son:

- a) Su pureza. Deberán estar presentes únicamente los componentes especificados.
- b) Debe ser capaz de provocar o inducir una reacción o respuesta antigénica.
- c) No debe producir daño en el huésped a las dosis recomendadas por el laboratorio (2).

Dentro de los requisitos mínimos que exige la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos para la producción de la vacuna contra la enfermedad de Newcastle se encuentran los siguientes puntos:

- A) Prueba de pureza: Verificar el producto vacunal este libre de cualquier contaminante (Salmonella spp., Mycoplasma spp., virus que provoquen enfermedades tales como Bronquitis, Viruela, Laringotraqueitis, Leucosis).
- B) Prueba de seguridad o inocuidad: Inoculación de pollos susceptibles via ocular, con el equivalente a 10 dosis. Ningún animal deberá presentar reacciones indeseables atribuibles al producto 21 días después de la inoculación.
- C) Prueba de titulación: Se reconstituye la vacuna con el diluyente que la acompaña a razón de 30 ml por cada 1000 dosis. Posteriormente se realizan diluciones logarítmicas decimales y se inoculan por cada dilución embriones, via cavidad alantoidea con no menos de 0.1 ml. La lectura se realiza entre el 3° y 5° día post inoculación, se analiza el líquido alantoideo de cada embrión por prueba directa de hemoaglutinación en placa y el título se calcula por el método de Reed and Muench.
- D) Prueba de potencia: Se lleva a cabo con aves susceptibles de 2 a 6 semanas de edad, formando 2 lotes de 10 aves cada uno; un lote será testigo y

el otro de prueba, a este último se le aplica la vacuna vía y dosis recomendada por el laboratorio. De los 15 a los 21 días post inoculación, ambos lotes se desafían. el desafío se realiza por vía intramuscular con 0.2 ml de virus de Newcastle cepa velogénica con un título de $10^{7.5}$ D₅₀/ml. La prueba se considera satisfactoria cuando el 90% de los animales vacunados permanecen vivos y sin signos de la enfermedad de Newcastle y el 90% del lote testigo muera o presente signos de la enfermedad.

Para favorecer la uniformidad y efectividad de la vacuna, ésta debe conservarse a temperaturas de refrigeración durante su almacenamiento y previamente a su aplicación, ya que el grado de inactivación se incrementa con un aumento en la temperatura (2). Al elevar la temperatura desde 0° a 37° C, baja el título de infectividad a 3 logaritmos en base 10 como promedio, bajo condiciones de campo (5).

Los virus no pueden ser contados por métodos ordinarios visuales, el conteo de éstos se realiza por métodos indirectos por ejemplo: realizando diluciones dobles o décuples para llegar a diluciones que no contengan actividad viral o suficiente concentración de partículas virales para provocar una infección en el huésped. El resultado final de la cuantificación se conoce comunmente como título. El título se expresa logarítmicamente, los logaritmos permiten simplificar el cálculo, es decir son exponentes a los que hay

que elevar una cantidad positiva para que resulte un número determinado.

La S.A.R.H. pide que el título mínimo que debe tener la vacuna contra la enfermedad de Newcastle sea de 107.0 DIE50%.

Este título deberá mantenerse durante todo el periodo de vigencia, y hasta 3 meses posteriores a la caducidad indicada en la etiqueta de la vacuna.

Factores como el almacenamiento prolongado, temperaturas elevadas, manejo deficiente de la vacuna en granja, o en casos en donde para aumentar el rendimiento de una vacuna o disminuir reacciones post-vacunales, se utiliza mayor diluyente al recomendado por el fabricante modifican el título de la vacuna.

OBJETIVO

Determinar la reducción en el título de la vacuna al diluirla al doble y al triple de volumen, en relación a su dilución normal.

Determinar si el título final se encuentra dentro de los rangos mínimos de protección.

PROCEDIMIENTO

Para la realización del experimento se utilizaron 450 embriones de pollo comercial de 10 días de edad.

Se utilizaron vacunas contra la enfermedad de Newcastle de tres diferentes laboratorios en envase de 1000 dosis cepa La Sota. Estas vacunas se identificaron con las letras A, B y C.

Se colocaron 9 tubos en las gradillas marcados desde -1 a -9, se agregó a cada uno 4.5 ml de caldo nutritivo con pipeta de 5 ml.

Se procedió a reconstituir la vacuna A de 1000 dosis con 30 ml de diluyente con pipetas de 10 ml en el matraz Erlenmeyer.

Al tubo marcado como -1 se le agregó 0.5 ml de vacuna y se agitó durante 30 seg. con el agitador eléctrico.

Se utilizaron pipetas de 1 ml para transferir 0.5 ml del tubo 10-1 al tubo 10-2, se agitó y se transfirieron 0.5 ml de ésta dilución para pasarse al siguiente tubo, siguiendo este procedimiento se llegó a la dilución 10-9.

Inoculación: Se ovoscopiaron los embriones y se marcó el límite de la cámara de aire.

Antes de perforar el cascarón se desinfectó con tintura de yodo al 2%, posteriormente se perforaron los huevos sobre la marca. Se inoculó vía cavidad alantoidea 0.1ml de cada una de las diluciones. Para cada dilución se utilizaron 5 embriones y una replica. Posteriormente al término de la

inoculación se sellaron los orificios y se metieron a la incubadora los embriones.

La técnica se repitió con la vacuna reconstituida a 60 ml y a 90 ml. El mismo método se aplicó a las vacunas B y C.

Se ovoscopió diariamente y se eliminó la mortalidad del primer día, al 5° día de incubación los embriones se sacrificaron y se realizó la prueba de hemoaglutinación en placa.

Al mezclar el fluido alantoideo con los glóbulos rojos de gallina al 2%, se observó la aglutinación de los eritrocitos.

Una vez obtenidas las reacciones de la hemoaglutinación se procedió a realizar el método de Reed and Muench (1938)

(2).

RESULTADOS

Se realizó la titulación de la D1E50% de las vacunas utilizadas para este trabajo.

Se obtuvieron los títulos de las vacunas A, B y C: diluidas a 30 ml así como a 60 ml y a 90 ml.

Se observó que existe una disminución de entre 0.22 a 1.68 de logaritmo base 10 del título de infectividad (Ver cuadro 1).

DISCUSION

Normalmente, el fabricante de biológicos contempla posibles disminuciones en el título de la vacuna, por lo que una vacuna bien manejada suele tener un título mayor al protectorio; sin embargo, en ocasiones el manejo no es el adecuado y existe pérdida en el título de esta.

Durante el experimento se observó que la dilución de una vacuna no detrimenta el título de la misma y esta conserva los niveles de protección señalados por el fabricante. De ahí que es factible realizar diluciones con fines experimentales para optimizar la utilización del biológico.

Sin embargo, es necesario realizar más estudios para conocer la correlación que existe entre la pérdida logarítmica y la dilución.

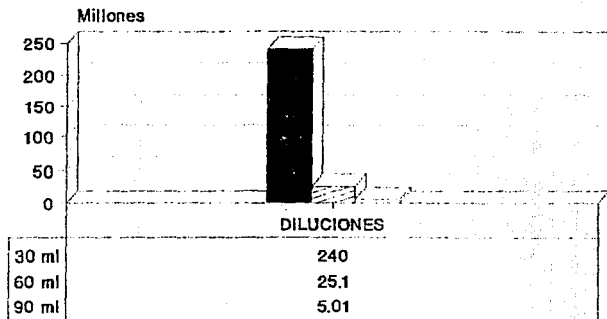
**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

LITERATURA CITADA

- 1.- Hofacre, C. L., Villegas, P. and Page, R. K.: Newcastle diseases vaccination of broiler with high and low titered commercial vaccinated. Avian Dis. 30: 623-627 (1986).
- 2.- National Academy of Science.: Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens. National Academy of Sciences. Washington, D. C., 1971.
- 3.- Rocha, M. L.: Exploración de algunos factores que intervienen en la calidad de las vacunas comerciales más utilizadas en la inmunización contra la enfermedad de Newcastle. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1961.
- 4.- Solvay Animal Health.: Discusión acerca de los títulos vacunales y la protección. Solvay Animal Health. México, D. F., 1992. Boletín técnico.
- 5.- Villaseñor, J. A.: Viabilidad del virus vacunal de Newcastle en condiciones de granja. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1964.

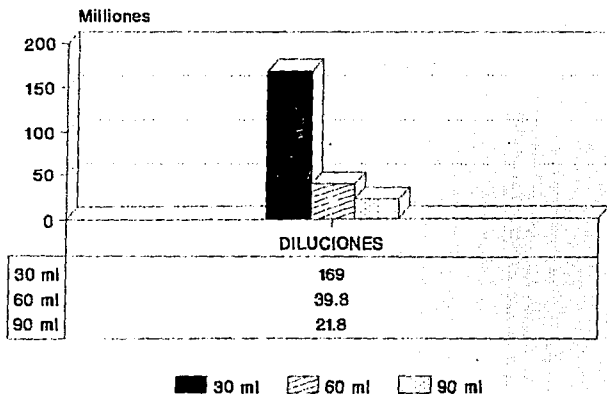
DILUCIONES DE VACUNAS

VACUNA A



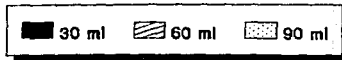
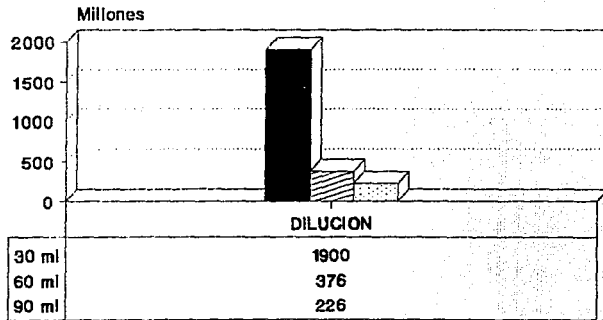
DILUCIONES DE VACUNAS

VACUNA B



DILUCIONES DE VACUNAS

VACUNA C



CUADRO 1

| | VACUNA A | VACUNA B | VACUNA C |
|-------|-------------|-------------|-------------|
| 30 ml | $10^{8.31}$ | $10^{8.16}$ | $10^{8.23}$ |
| | $10^{8.43}$ | $10^{8.31}$ | $10^{8.23}$ |
| 60 ml | $10^{7.43}$ | $10^{7.42}$ | $10^{8.43}$ |
| | $10^{7.3}$ | $10^{7.39}$ | $10^{8.9}$ |
| 90 ml | $10^{6.9}$ | $10^{7.37}$ | $10^{8.37}$ |
| | $10^{6.6}$ | $10^{7.31}$ | $10^{8.32}$ |