

PRESENCIA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL VIRUS DE LA ENCEFALOMIELITIS AVIARIA EN HUEVOS PROVENIENTES DE AVES REPRODUCTORAS DE MÉXICO

M. V. Z., M. A. PABLO CORREA G.¹
M. V. Z., M. S. PEDRO SOLANA M.¹

Resumen

Se estimó la presencia de anticuerpos contra el virus de la encefalomiélitis aviaria (EA) en 17 lotes de embriones procedentes de granjas de diferentes partes de la República. Se utilizó la técnica de susceptibilidad del embrión de pollo al virus Van Roekel de EA. Dos lotes resultaron 100% susceptibles. En el resto se encontró un grado variable de resistencia. Lo cual sugiere una amplia difusión de esta enfermedad en México.

La encefalomiélitis de las aves (EA) es una enfermedad de tipo nervioso cuyos signos clínicos y lesiones histológicas han sido comunicados en México por Rivera (1961) y por Arellano (1964). En el invierno de 1965 se presentó una epizootia, en la que cerca del 40% de los casos diagnosticados en el Laboratorio de Patología Avícola de la Universidad Nacional Autónoma de México correspondieron a la EA; esto atrajo nuestra atención hacia esta enfermedad. El objetivo de este estudio, fue determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la EA en huevos de aves reproductoras de México, para conocer su distribución aproximada en el país. Al mismo tiempo, se tenía interés en conocer parvadas susceptibles productoras de embriones libres de anticuerpos contra EA, para continuar estudiando esta enfermedad. Al localizar parvadas susceptibles, se hicieron posibles el aislamiento e identificación del virus de la EA en México (Martell, 1968a).

Material y métodos

Se estimó la presencia de anticuerpos contra el virus de la EA en 17 lotes de huevos embrionados, procedentes de 12 diferentes granjas (Cuadro 1), siguiendo la técnica de susceptibilidad del embrión de pollo descrita por Taylor y Schelling (1960).

Al recibir la cepa AEVR-37AD, del virus

Recibido para publicación el 6 de mayo de 1967.

¹ Departamento de Microbiología Experimental. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias S.A.G., México. D. F.

Van Roekel (VR) de EA,² se le dio un pase en huevos procedentes de la granja A, en los cuales hubo 100% de susceptibilidad. Los cerebros de estos embriones infectados fueron colectados y a este material se le denominó cepa 16/VI/66. Cada uno de los 17 lotes probados fueron divididos en dos grupos; un grupo fue inoculado con la cepa AEVR-37AD y el otro con la cepa 16/VI/66. En cada grupo había aproximadamente 35 huevos embrionados de 5 días; por lo menos 5 embriones de cada grupo fueron utilizados como testigos sin inocular, y los restantes fueron inoculados en el saco vitelino con la cepa respectiva de EA diluida al 1:100. Al final del experimento la cepa 16/VI/66 fue titulada en huevos embrionados susceptibles.

Los embriones fueron incubados durante los 13 días siguientes a la inoculación; se observaron diariamente al ovoscopio y se desecharon los muertos. El fluido alantoideo (FA) de los embriones muertos después de las primeras 48 horas se sembró en triptosa agar inclinado y en tioglicolato para investigar las posibilidades de contaminación bacteriana. Con el FA también se hicieron pruebas de aglutinación en placa para observar posibles contaminaciones con agentes que aglutinan los glóbulos rojos de aves. Sólo se consideraron en el experimento aquellos lotes en los que sobrevivieron más de 18 embriones al 13° día después de la inoculación. Al terminar este lapso, cada embrión inoculado se observó individualmente y se le comparó con los testigos. Se consideraron como suscepti-

² El virus fue proporcionado por el Dr. H. Van Roekel.

bles al virus de la EA aquellos embriones que mostraron parálisis, encorvamiento, rigidez, enanismo o retardo del crecimiento y retardo del desarrollo muscular. Los embriones que no presentaron estas lesiones características se consideraron como resistentes. Con el FA de los embriones que presentaron estas lesiones, se hicieron siembras en triptosa agar inclinado y en tioglicolato, y en varios de los embriones afectados se estudiaron las lesiones histológicas.

Resultados

Los resultados están anotados en el Cuadro 1. El título de la cepa 16/VI/66 fue de 10^9 . Durante las pruebas de susceptibilidad a cada embrión se le inocularon 10,000 DL_{50} de esta cepa. Los embriones de la granja A, fueron 100% susceptibles a la cepa AEVR-37AD en la primera prueba y mostraron un grado variable de resistencia cuando fueron probados siete, ocho y nueve semanas después de ésta. El lote procedente de la granja K fue probado en la parte final del experimento y mostró ser 100% susceptible a las 2 cepas.

En los embriones procedentes de las otras granjas se observó un porcentaje variable de resistencia. En los tubos de triptosa agar inclinado y tioglicolato no hubo crecimiento de bacterias, las pruebas de aglutinación dieron resultados negativos.

Discusión

La presencia de anticuerpos contra EA puede ser estimada mediante diferentes técnicas (Natl. Acad. Sci., 1963). Entre las más conocidas están la prueba de susceptibilidad del embrión de pollo descrita por Taylor y Schelling (1960) y la prueba de virus-neutralización en la que se utilizan huevos embriónados sin anticuerpos contra EA (Calnek y Jehnich, 1959). La prueba estándar de susceptibilidad del embrión fue más adecuada al objetivo de este estudio, porque no se disponía de embriones susceptibles para hacer las pruebas de virus-neutralización, ya que se desconocía el grado de resistencia contra la EA en las parvadas disponibles. Esta prueba tiene como fundamento la detección de anticuerpos neutralizantes en la yema de los hue-

Cuadro 1

Procedencia de los embriones de pollo y resultado de las pruebas de susceptibilidad ante el virus Van Roekel, Cepas AEVB-37AD y 16/VI/66

Lote numero	Fecha de Prueba (1966)	Procedencia	Granja	Porcentaje de susceptibilidad	
				Ante la cepa 16/VI/66	Ante la cepa AEVE-37AD
1	2 de abril	Distrito Federal	A	*	100
2	28 de mayo	Distrito Federal	A	*	26
3	2 de junio	Distrito Federal	A	30	13
4	3 de junio	Distrito Federal	A	20	40
5	10 de junio	Distrito Federal	A	36	7
6	8 de abril	Distrito Federal	B	*	21
7	10 de junio	Distrito Federal	B	27	14
8	2 de junio	Estado de México	C	50	35
9	10 de junio	Distrito Federal	D	*	20
10	15 de junio	Estado de Sonora	E	*	50
11	15 de junio	Estado de Sonora	F	60	*
12	15 de junio	Estado de México	G	38	16
13	15 de junio	Estado de México	H	26	16
14	15 de junio	Estado de Querétaro	I	50	15
15	15 de junio	Estado de Jalisco	J	26	4
16	18 de junio	Estado de México	K	100	100
17	22 de junio	Estado de México	L	40	13

* No se probó ante esta cepa por no haber suficiente número de embriones.

vos de aves reproductoras; el virus de la EA produce lesiones características en el embrión cuando es inoculado en huevos susceptibles, estas lesiones no se presentan cuando los huevos inoculados contienen anticuerpos específicos (Taylor y Schelling, 1960; Calnek *et al.*, 1960).

El virus VR tiene antigenicidad cruzada con todas las cepas de EA que se han aislado y por ello se recomienda su utilización en esta prueba (Natl. Acad. Sci., 1963). La dosis inoculada de la cepa 16/VI/66 fue adecuada y permitió tanto la detección de lotes de huevos susceptibles como de lotes resistentes. Las posibilidades de que los signos y las lesiones observadas en los embriones inoculados fueran producidas por otro agente etiológico quedan descartadas, ya que las siembras en medio de cultivo y las pruebas de aglutinación resultaron negativas, y además porque al hacer el estudio histopatológico del cerebro y músculos de los embriones afectados se observaron las lesiones características de la EA descritas por Jungherr *et al.* (1956) en el embrión de pollo. Los lotes inoculados presentaron un porcentaje mayor de susceptibilidad hacia la cepa 16/VI/66, que hacia la cepa AEVR-37AD, probablemente porque el título del virus fue mayor en la primera.

El lote Núm. 1 de la granja A era susceptible al momento de efectuar la primera prueba y evidentemente padeció EA durante el período de los dos meses siguientes; probablemente por esta razón los embriones fueron resistentes en las pruebas siguientes. Taylor y Schelling (1960) probaron mensualmente la resistencia de lotes de huevos procedentes de parvadas susceptibles, observando que las parvadas jóvenes con mayor frecuencia son 100% susceptibles y que, además, corren el riesgo de ser infectadas en cualquier momento por los virus de campo de EA. Ellos también observaron que mensualmente se infectaron con virus de campo el 16% de las parvadas que estudiaron. De acuerdo con la prueba de susceptibilidad del embrión de pollo al virus de EA, los huevos procedentes de la granja K fueron 100% susceptibles.

Puesto que se encontró resistencia al probar varios lotes de huevos procedentes de granjas situadas en diferentes Estados de la República distantes entre sí, se puede deducir que el virus de la EA existe en nuestro

medio avícola y que tiene una amplia difusión en México. Es importante mencionar que los estados de donde se obtuvieron lotes de huevo para ser estudiados, figuran entre los más importantes productores avícolas. Estudios posteriores, siguiendo el mismo procedimiento, han demostrado que huevos procedentes de otras granjas situadas en los mismos Estados de donde se obtuvieron los embriones para este estudio, y los de otros Estados, son resistentes al virus de la EA (Martell 1968b). El aislamiento del virus de la EA confirma que esta enfermedad existe en México (Martell 1968a). Estos datos son complementados por el hecho de que la EA se ha diagnosticado clínica e histológicamente en aves procedentes de la mayoría de los Estados de la República Mexicana (Rivera, 1961; Arellano, 1964).

Los avicultores sufren pérdidas económicas al disminuir el porcentaje de incubabilidad y viabilidad de los embriones y al presentarse la enfermedad en los pollitos que nacen durante las semanas siguientes a la iniciación del brote en las reproductoras. La amplia difusión de la EA en México dificulta su erradicación. La frecuencia con que se presentan brotes epizooticos de esta enfermedad, sugieren la necesidad de hacer una cuidadosa evaluación de su incidencia, con el fin de tomar las medidas profilácticas más adecuadas para su control. Es importante estudiar las características antigénicas de las cepas de campo de EA existentes en México; algunos estudios indican la eficacia de las vacunas de virus inactivado aplicadas intramuscularmente (Schaaf, 1959 y 1960; Butterfield *et al.*, 1961); otros informes aconsejan los métodos de vacunación por vía oral (Calnek *et al.*, 1961; Hoekstra, 1964, Schaaf, 1960). Schaaf (1960) sugiere también la utilización de vacunas de virus vivo aplicadas por punción en el ala. Aparentemente, cada una de las vacunas mencionadas puede cumplir con su cometido si se aplica en condiciones óptimas.

Summary

The presence of antibodies against avian encephalomyelitis virus was estimated in 17 lots of embryos from farms located in different areas of México, using the chick em-

bryo susceptibility test to the Van Roekel strain. Two lots were completely susceptible, variable degree of resistance was detected in the remaining lots. These results suggest that there is a wide distribution of the disease in México.

Literatura citada

- ARELLANO S., C. 1964. Influencia de la estación del año, edad, raza y tipo de explotación en 2,433 casos diagnosticados en el Laboratorio de Patología Avícola de la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. *Tesis profesional*. 30.
- BUTTERFIELD, W. K.; LUGINBUHL, R. E.; HELMBOLDT, C. F., AND SUNNER, F. W. 1961. Studies on avian encephalomyelitis. III. Immunization with an inactivated virus. *Avian Dis.* 4:446-450.
- CALNEK, B. W., AND JEHNICH, H. 1959. Studies on avian encephalomyelitis. I. The use of serum neutralization test in the detection of immunity levels. *Avian Dis.* 3:95-104.
- CALNEK, B. W.; TAYLOR, P. J., AND SEVOIAN, M. 1960. Studies on avian encephalomyelitis. IV. *Epizootiology. Av. Dis.* 4:325-347.
- CALNEK, B. W.; TAYLOR, P. J., AND SEVOIAN, M. 1961. Studies on avian encephalomyelitis. V. Development and application of an oral vaccine. *Avian Dis.* 3:297-312.
- HOEKSTRA, J. 1964. Experimente with avian encephalomyelitis. *Brit. Vet. J.* 120:322-335.
- JUNGHERR E L. SUMMER , F., AND LUNGINBUHL., R. E. 1956. Pathology of egg adapted avian encephalomyelitis. *Science.* 124:80-81.
- MARTELL D., M. A. 1968a. Aislamiento e identificación del virus de la encefalomyelitis aviaria en México. *Téc. Pec. en Méx.* 11:15.
- MARTELL D., M. A. 1968b. Comunicación personal.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES.. Natl. Res. Council, 1963. Methods for the examination of poultry biologics. 2nd. Ed., *Publication 1038.* Avian encephalomyelitis. p. 87-93.
- RIVERA CRUZ, E. 1961. Comunicación preliminar de la encefalomyelitis aviaria en la República Mexicana. *Tesis profesional.* E.N.M.V.Z., U.N.A.M. p. 12.
- SCHAAF, K. 1959. Avian encephalomyelitis immunization with inactivated virus *Avian Dis.* 3:245-256.
- SCHAAF, K. 1960. Field control of avian encephalomyelitis. 64th. Ann. *Proc. U.S. Livestock San. Ass.* p. 213-220.
- TAYLOR, J. R. W., AND SCHELLINC. E. P. 1960. The distribution of avian encephalomyelitis in North America as indicated by immunity test. *Avian Dis,* 4:122-133.

Agradecimiento

Los autores hacen patente su agradecimiento a los Médicos Veterinarios Zootecnistas y Avicultores que proporcionaron el material biológico estudiado.