

## Evaluación de la respuesta inmunitaria humoral en gallinas de doble propósito vacunadas contra la enfermedad de Newcastle en Vinto-Cochabamba

Evaluation of Humoral Immune Response in Dual-Purpose Hens Vaccinated Against Newcastle Disease in Vinto-Cochabamba

Avaliação da Resposta Imune Humoral em Galinhas de Dupla Finalidade Vacinadas Contra a Doença de Newcastle em Vinto-Cochabamba

 Gastón Quiroga Quiroz<sup>1</sup>,

 Ricardo Zambrana Copaja<sup>2</sup>

### Resumen

**Introducción:** La enfermedad de Newcastle es una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta y causa grandes daños en aves domésticas y silvestres. Para su control, el mejor método es la vacunación, pero este procedimiento se realiza de diferente manera en aves de granja de crianza intensiva que en aves de traspatio en crianza familiar. Usar distintos protocolos y técnicas de vacunación pueden incrementar o disminuir la efectividad de la misma; en este trabajo se evalúa la eficiencia de un protocolo de vacunación actualmente utilizado para crear titulaciones proyectivas de anticuerpos contra Newcastle en la localidad de Vinto. **Metodología:** El presente estudio experimental evaluó la respuesta inmune humoral en una población de gallinas de doble propósito de traspatio proporcionadas por el Gobierno autónomo municipal de Vinto, vacunadas contra la enfermedad de Newcastle con el protocolo modificado de vacunación por vía oral, mezclando la vacuna con el alimento. Se muestrearon aleatoriamente 66 individuos con dos repeticiones, teniendo 132 muestras serológicas de aves, las cuales fueron divididas en dos grupos: primo-vacunales y con vacunación previa. Adicionalmente, se tomaron muestras de suero previo a la vacunación y a las 4 semanas posteriores. Los títulos de anticuerpos se determinaron mediante el ensayo ELISA, y se compararon con test de ANOVA y análisis post-hoc de Tukey. **Resultados:** se realizó la primera evaluación de anticuerpos post-vacunales contra Newcastle en aves de traspatio en Bolivia. Los resultados no mostraron un aumento estadísticamente significativo de títulos de anticuerpos post-vacunales en los grupos respecto a títulos de anticuerpos en las aves pre-vacunación; Además, se presentó una alta variabilidad o des uniformidad de respuesta, mostrando deficiencias respecto a la eficiencia del protocolo de vacunación. **Discusión:** De forma contraria a estudios previos, la vacunación no indujo una adecuada respuesta de anticuerpos, y presentó una gran variabilidad al conferir protección humoral contra la enfermedad de Newcastle en gallinas ponedo-

### Correspondencia a:

<sup>1</sup> Unidad de zoonosis Vinto, Gobierno autónomo municipal de Vinto, Cochabamba, Bolivia.

<sup>2</sup> Departamento de Producción, Carrera de Veterinaria y Zootecnia, UNITEPC, Cochabamba, Bolivia.

### Email de contacto:

[gquiroga836@gmail.com](mailto:gquiroga836@gmail.com)

### Recibido para publicación:

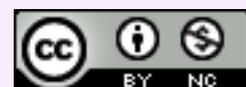
05 de abril del 2024

### Aceptado para publicación:

30 de junio del 2024

### Citar como:

Quiroga Quiroz G, Zambrana Copaja R. Evaluación de la respuesta inmunitaria humoral en gallinas de doble propósito vacunadas contra la enfermedad de Newcastle en Vinto-Cochabamba. *Revista Científica de Veterinaria y Zootecnia UNITEPC*. 2024;3(1):13-20.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

ras de traspatio, generándose un riesgo de bolsones de población no inmunizados. Se requieren intervenciones coordinadas entre productores, industria y gobierno para mejorar los programas de vacunación en la avicultura familiar y controlar de manera efectiva esta devastadora enfermedad aviar.

**Palabras clave:** Esquema de Vacunación, Inmunización Activa, Programa Nacional de Inmunización, Respuesta Inmune.

#### Abstract.

**Introduction:** Newcastle disease is a highly contagious viral disease that affects and causes significant damage to domestic and wild birds. Vaccination is the best method for its control; however, this procedure is carried out differently in intensively farmed poultry compared to backyard family-raised birds. Using different vaccination protocols and techniques can either increase or decrease vaccine effectiveness; this study evaluates the efficiency of a vaccination protocol currently used to create projective antibody titrations against Newcastle disease in the locality of Vinto. **Methodology:** This experimental study evaluated the humoral immune response in a population of backyard dual-purpose hens provided by the autonomous municipal government of Vinto, vaccinated against Newcastle disease with a modified oral vaccination protocol by mixing the vaccine with food. A total of 66 individuals were randomly sampled with two repetitions, yielding 132 serological samples from birds, which were divided into two groups: prime-vaccinated and previously vaccinated. Additionally, serum samples were taken before vaccination and 4 weeks afterward. Antibody titers were determined using the ELISA assay and compared using ANOVA tests and Turkey post-hoc analysis. **Results:** This study conducted the first evaluation of post-vaccine antibodies against Newcastle in backyard birds in Bolivia. The results did not show a statistically significant increase in post-vaccine antibody titers in the groups compared to pre-vaccination antibody titers; moreover, there was high variability or non-uniformity in response, showing deficiencies regarding the efficiency of the vaccination protocol. **Discussion:** Contrary to previous studies, vaccination did not induce an adequate antibody response and presented great variability in conferring humoral protection against Newcastle disease in backyard laying hens, creating a risk of immunized population pockets. Coordinated interventions among producers, industry, and government are required to improve vaccination programs in family poultry farming and to effectively control this devastating avian disease.

**Keywords:** Vaccination Schedule, Active Immunization, National Immunization Program, Immune Response.

#### Resumo.

**Introdução:** A doença de Newcastle é uma doença viral altamente contagiosa que afeta e causa grandes danos em aves domésticas e selvagens. A vacinação é o melhor método para seu controle; no entanto, esse procedimento é realizado de maneira diferente em aves de criação intensiva comparado a aves criadas em quintais familiares. Usar diferentes protocolos e técnicas de vacinação pode aumentar ou diminuir a eficácia da vacina; este estudo avalia a eficiência de um protocolo de vacinação atualmente utilizado para criar titulações projetivas de anticorpos contra a doença de Newcastle na localidade de Vinto. **Metodologia:** Este estudo experimental avaliou a resposta imune humoral em uma população de galinhas de dupla finalidade de quintal fornecidas pelo governo municipal autônomo de Vinto, vacinadas contra a doença de

Newcastle com um protocolo modificado de vacinação oral, misturando a vacina com o alimento. Um total de 66 indivíduos foram amostrados aleatoriamente com duas repetições, totalizando 132 amostras sorológicas de aves, divididas em dois grupos: primo-vacinadas e previamente vacinadas. Adicionalmente, amostras de soro foram coletadas antes da vacinação e 4 semanas depois. Os títulos de anticorpos foram determinados usando o ensaio ELISA e comparados usando testes de ANOVA e análise post-hoc de Tukey. **Resultados:** Este estudo realizou a primeira avaliação de anticorpos pós-vacinais contra Newcastle em aves de quintal na Bolívia. Os resultados não mostraram um aumento estatisticamente significativo nos títulos de anticorpos pós-vacinais nos grupos em comparação com os títulos de anticorpos pré-vacinação; além disso, houve alta variabilidade ou não uniformidade na resposta, mostrando deficiências quanto à eficiência do protocolo de vacinação. **Discussão:** Ao contrário de estudos anteriores, a vacinação não induziu uma resposta adequada de anticorpos e apresentou grande variabilidade na conferência de proteção humoral contra a doença de Newcastle em galinhas poedeiras de quintal, gerando um risco de bolsões de população não imunizados. Intervenções coordenadas entre produtores, indústria e governo são necessárias para melhorar os programas de vacinação na avicultura familiar e controlar efetivamente esta devastadora doença aviária.

**Palavras-chave:** Esquema de Vacinação, Imunização Ativa, Programa Nacional de Imunização, Resposta Imune.

### Introducción.

La enfermedad de Newcastle es una infección viral altamente contagiosa causada por el virus de Newcastle (NDV, por sus siglas en inglés, Newcastle Disease Virus), perteneciente al género Avulavirus y a la familia Paramyxoviridae (1). Esta enfermedad representa una seria amenaza para las aves, tanto domésticas como silvestres, a nivel mundial. Se caracteriza por su alta capacidad de propagación y su potencial para causar daños significativos en las poblaciones de aves, lo que conlleva consecuencias económicas y preocupaciones de salud pública (2). La enfermedad puede afectar a una amplia variedad de aves, manifestándose a través de síntomas respiratorios, digestivos y neurológicos, con tasas de mortalidad variables (3).

Las gallinas ponedoras son particularmente susceptibles a la enfermedad de Newcastle, lo que da como resultado pérdidas económicas considerables (4). Por esta razón, la vacunación se ha convertido en una herramienta esencial para controlar y prevenir su propagación en la producción avícola (5). Además de las repercusiones económicas, el NDV plantea un riesgo para la salud pública, dado que algunas cepas del virus pueden infectar a los seres humanos (6). Estos factores, junto con la capacidad de propagación rápida del virus a través del contacto directo y el aire, hacen que la enfermedad sea una preocupación común en la cría de aves de corral.

En granjas de producción intensiva, la vacunación se ha consolidado como la estrategia principal para controlar el NDV. Sin embargo, en el caso de aves de traspatio o gallinas de doble propósito, la vacunación se lleva a cabo de manera diferente y plantea desafíos adicionales, ya que generalmente no se realiza siguiendo los mismos estándares técnicos (7). La diversidad en la oferta de vacunas, e.g. vivas, atenuadas termoestables (8,9); y los múltiples protocolos de vacunación utilizados en diferentes contextos de cría de traspatio, y la falta de capacitación adecuada, pueden aumentar el riesgo de brotes de NDV en poblaciones de aves domésticas de cría intensiva y, potencialmente, en aves silvestres cercanas (10).

La ausencia de directrices y protocolos específicos para la vacunación de aves de traspatio en entornos de cría familiar en países en desarrollo, como Bolivia, se debe a que los esfuerzos previos para comprender y controlar la enfermedad de Newcastle se han centrado en la avicultura industrial de países desarrollados, dejando un vacío de información y orientación para aquellos que crían aves en entornos más pequeños y diversos (10,11). A pesar de la existencia de investigaciones valiosas sobre esta enfermedad, falta atención en la literatura respecto a la vacunación en contextos nacionales específicos. Los protocolos de vacunación y las mejores prácticas para entornos como la cría de gallinas de traspatio no están suficientemente documentados ni evaluados.

Esta investigación tiene como objetivo evaluar un protocolo de vacunación actualmente utilizado en la cría de gallinas de traspatio y su efectividad en la prevención de la enfermedad de Newcastle, además de identificar las deficiencias y desafíos específicos asociados con la vacunación de aves de traspatio en entornos de crianza familiar. Postulando que la vacunación conferirá títulos de anticuerpos que brindan protección con este protocolo. Todo con el propósito de desarrollar directrices y recomendaciones específicas con el fin de mejorar la eficacia del control de la enfermedad de Newcastle en estos entornos y preservar el estatus de libre de patógenos en la región.

### **Metodología.**

Este estudio monitoreó una cohorte de aves de traspatio de manera experimental para evaluar impactos específicos del protocolo de vacunación oral actual; para ello se realizó la coordinación con representantes comunitarios a través de la unidad de zoonosis municipal de Vinto (GAM Vinto) para la toma, rotulado y análisis de muestras pre y post-vacunación de ambos grupos. También se realizó la planificación y ejecución de la vacunación en el grupo vacunado contra la enfermedad de Newcastle con el protocolo modificado de vacunación por vía oral, que se efectúa mezclando la vacuna de aspersión oral con el alimento proporcionado a las aves. Se contó con apoyo logístico de PRONESA en capacitaciones, dosificación y entrega de la vacuna en las localidades donde se evaluó: Anocaraire, Machajmarca y Chulla, en el Municipio de Vinto, departamento de Cochabamba.

Se seleccionó aleatoriamente, y posteriormente evaluó la respuesta inmune humoral en una muestra de gallinas ponedoras de traspatio (n=66). Se analizaron 132 muestras de aves, las cuales fueron divididas en dos grupos: primo-vacunales y con vacunación previa. Además, se tomaron muestras pre y post-vacunación. Las dosis de la vacuna HIPRAVIAR S administradas vía oral a las 16 semanas y una dosis de refuerzo a las 18 semanas de edad.

Las muestras de suero fueron recolectadas mediante venopunción de la vena alar derecha utilizando jeringas estériles, extrayendo de 2 a 3 ml por ave. Luego, las muestras se colocaron a una inclinación de 45 grados para permitir la separación del suero y se conservaron refrigeradas a 4 °C durante su transporte al laboratorio, en un periodo máximo de 4 horas. Este proceso estandarizado aseguró la calidad de las muestras para los análisis posteriores.

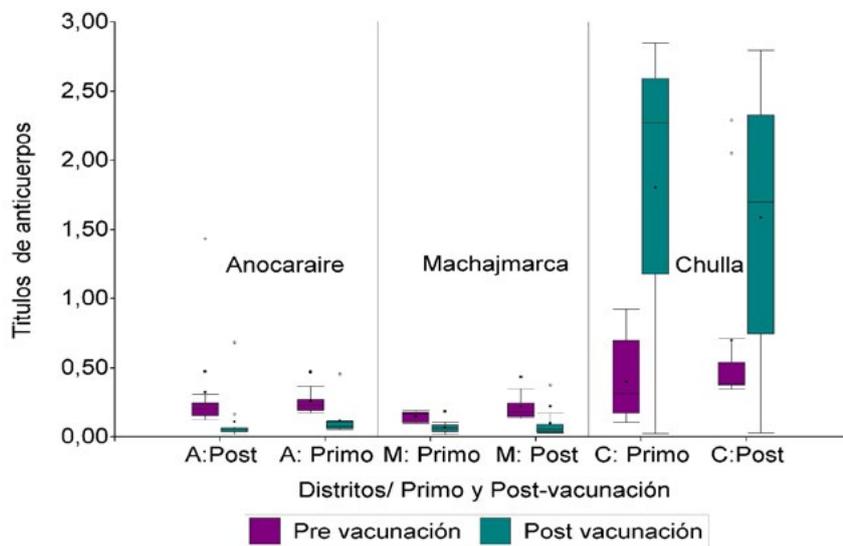
Los análisis fueron efectuados en UNALAB – Cochabamba (laboratorio de referencia acreditado) mediante la prueba de ELISA-INDIRECTA (BioChek ELISA) para determinar los títulos de anticuerpos a los 2 días y 4 semanas posteriores a la vacunación. Los títulos se expresaron como el logaritmo en base 2 del valor recíproco de la mayor

dilución de suero que inhibió la hemoaglutinación. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de dos vías y prueba de Tukey con significancia de  $p < 0.05$  utilizando el programa SPSS v.25 (IBM, EEUU); y se tomaron los porcentajes de referencia de uniformidad y desuniformidad del proveedor.

## Resultados

Los títulos medios de anticuerpos post-vacunación disminuyeron en Anocaraire y Machajmarca, pero incrementaron en Chulla (**Fig. 1**). En los análisis divididos por los grupos primo-vacunales y con vacunación previa también se observó el mismo patrón de disminución e incremento respectivamente ( $p < 0.05$ ).

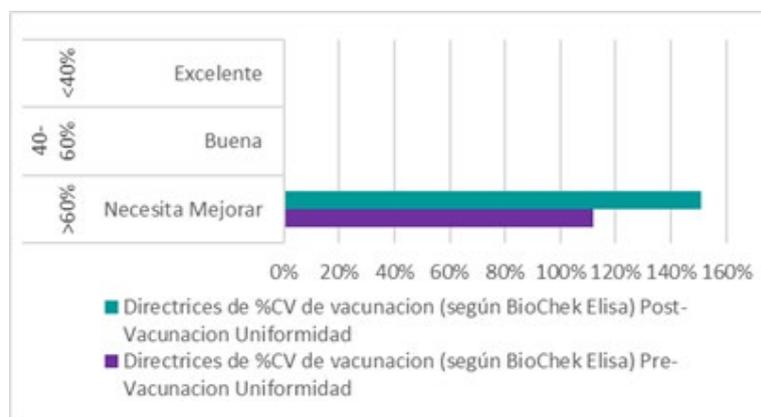
**Fig.1** Cambio en la titulación pre y post-vacunal en Anocaraire, Machajmarca, Chulla; separada por grupos de aves primo-vacunales y con vacunación previa.



Fuente: Elaboración propia.

Respecto a la variabilidad en la respuesta inmune, de acuerdo a las directrices de uniformidad de BioChek, se encontró que está por encima del 60 % (i.e. 151 %) tanto pre como post-vacunal; por tal forma anterior y posterior a la vacunación se presenta una desuniformidad muy alta o dispersa, dando como resultado una evaluación negativa del proceso de la vacunación y estableciendo que se necesita mejorar (**Fig. 2**).

**Fig.2** Variabilidad de la respuesta inmunitaria de la población pre y post-vacunación, relacionada con la normativa BioChek ELISA.



Fuente: Elaboración propia.

La prueba de ANOVA y Tukey ( $\alpha=0.05$ , p-valor: Anocaire-Chulla=  $<0,0001$ ; Anocaire-Machajmarca=  $0,489$ ; Chulla-Machajmarca=  $<0,0001$ ) revelaron que no existen diferencias significativas entre la respuesta de Anocaire y Machajmarca, pero sí entre ambas con respecto a Chulla.

El presente trabajo constituye la primera evaluación de campo de la eficacia del protocolo de vacunación oral en aves de traspatio para crear protección activa, tanto en Vinto como en Bolivia.

### Discusión.

En primer lugar, es importante señalar que la vacunación de las gallinas de doble propósito con la vacuna HIPRAVIAR S de Newcastle y el protocolo oral modificado no dio como resultado un aumento relevante y uniforme de los niveles de anticuerpos específicos en las áreas evaluadas. Este comportamiento es diferente al reportado en estudios previos. Sin embargo, es relevante mencionar que esta discrepancia podría estar relacionada con el hecho de que los estudios anteriores consideraron factores como el tipo de suelo (12) y el grado de tostado de los granos en la alimentación (13), aspectos que no fueron contemplados en este estudio. Es posible que estas variables, que en investigaciones anteriores demostraron tener un efecto, influyeran en nuestros resultados, pero no fueron consideradas en el análisis, ya que el estudio se llevó a cabo en un área donde dichas covariables son constantes.

La falta de respuesta inmunitaria uniforme encontrado podría estar relacionada con diversos factores, como la variabilidad genética de las aves, las condiciones ambientales locales y la calidad de la administración de la vacuna. Según las directrices de uniformidad de Biochek, la variabilidad en la respuesta inmune supera el 60 %, lo que indica una desuniformidad muy alta entre las áreas evaluadas. Esta falta de uniformidad sugiere que el proceso de vacunación no está siendo igualmente efectivo en todas las áreas, lo que podría deberse a problemas logísticos, de manejo de las aves o a condiciones locales.

En particular, se observó un incremento en la respuesta inmune humoral en el caso de Chulla, lo que propone un desarrollo adecuado de la inmunidad. Sin embargo, la situación difiere en Anocaire y Machajmarca, donde se registró una respuesta humoral negativa. Esta anomalía se observó tanto en aves primo-vacunales como en aquellas con vacunaciones previas, lo que resalta un problema en la efectividad de la inmunización en estas áreas, que tomando en cuenta no se observa en Chulla, atribuimos la misma a deficiencias en los equipos de conservación de los insumos propios de los establecimientos o a errores humanos locales, y no al protocolo en sí mismo.

En cuanto a los resultados específicos en Anocaire y Machajmarca, la respuesta humoral negativa indica un fallo significativo en la generación de inmunidad en estas áreas particulares. Sin embargo, estos resultados coinciden con estudios previos que informaron la respuesta inmune humoral luego de la vacunación con diversas cepas vivas e inactivadas de Newcastle administradas en Cochabamba (11). Esto podría deberse a factores específicos en el manejo de las aves, la calidad de la vacuna administrada o condiciones ambientales adversas que afectan la eficacia de la vacunación.

En conclusión, los resultados sugieren que la vacunación en gallinas de doble propósito con la vacuna HIPRAVIAR S de Newcastle y el protocolo oral modificado presenta desafíos en la inducción de una respuesta inmune homogénea y efectiva, especial-

mente en áreas como Anocaraire y Machajmarca. Se necesitan investigaciones adicionales para comprender y abordar las causas subyacentes de esta variabilidad, con el objetivo de mejorar la eficacia de los programas de vacunación en estas regiones específicas.

En conclusión, la vacunación de gallinas de doble propósito con HIPRAVIAR S administrada vía oral contra la enfermedad de Newcastle indujo respuestas inmunes variables, observándose en algunos casos altos niveles de anticuerpos específicos que confieren una adecuada inmunidad humoral, mientras que en otros casos no se produjo un incremento de los títulos de anticuerpos, más bien un descenso. Si se afirma que el monitoreo serológico permite evaluar la correcta seroconversión en respuesta a la vacunación, se concluye que el actual protocolo de administración oral de la vacuna contra Newcastle es deficiente y necesita ser ajustado para obtener títulos protectores en todos los animales vacunados de manera consistente.

### Conflictos de interés.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Referencias Bibliográficas.

1. Dimitrov KM, Abolnik C, Afonso CL, Albina E, Bahl J, Berg M, et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019 Oct;74:103917.
2. Alexander DJ. Newcastle disease and other avian paramyxovirus. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. 2000 Aug 1;19(2):443–62.
3. Miller PJ, Decanini EL, Afonso CL. Newcastle disease: Evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. Vol. 10, *Infection, Genetics and Evolution*. 2010. p. 26–35.
4. Ul-Rahman A, Ishaq HM, Raza MA, Shabbir MZ. Zoonotic potential of Newcastle disease virus: Old and novel perspectives related to public health. *Rev Med Virol*. 2022 Jan 10;32(1).
5. Aldous EW, Mynn JK, Banks J, Alexander DJ. A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *Avian Pathology*. 2003 Jan 1;32(3):237–55.
6. Burman B, Pesci G, Zamarin D. Newcastle disease virus at the forefront of cancer immunotherapy. Vol. 12, *Cancers*. MDPI AG; 2020. p. 1–15.
7. Valencia Burbano MF. Revisión bibliográfica de la enfermedad de Newcastle en pollos de engorde [Thesis]. [Popayan]: Universidad Antonio Nariño; 2021.
8. Dhar PK, Dutta A, Das A, Jalal MS, Barua H, Biswas PK. Validation of real-time reverse transcription polymerase chain reaction to detect virus titer and thermostability of Newcastle disease live virus vaccine. *Vet World*. 2018 Nov 20;1597–603.
9. Sun M, Xiang B, Li Y, Xie P, Gao S, Kang Y, et al. Generation and evaluation of a genetically attenuated Newcastle disease virus rGM-VII<sub>m</sub> as a genotype-matched vaccine. *Virus Genes*. 2017 Feb 7;53(1):35–43.
10. Paniagua Rodríguez IR. Monitoreo serológico de Newcastle en ponedoras comerciales mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación en el sector pro-

ductivo de Capinota-Cochabamba [Trabajo final de diplomado]. [Cochabamba]: Universidad Mayor de San Simón; 2023.

11. Pascual Porras V. Evaluación serológica de la enfermedad Newcastle en aves de postura en laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UMSS Cochabamba [Trabajo final de diplomado]. [Cochabamba]: Universidad Mayor de San Simón; 2023.
12. Spradbrow PB, Samuel JL, Ibrahim AL. Serological response of chickens to oral vaccination with newcastle disease virus. *Vet Microbiol.* 1988 Mar;16(3):255–62.
13. Abdi RD, Amsalu K, Merera O, Asfaw Y, Gelaye E, Yami M, et al. Serological response and protection level evaluation in chickens exposed to grains coated with I2 Newcastle disease virus for effective oral vaccination of village chickens. *BMC Vet Res.* 2016 Dec 25;12(1):150.