

TESIS PREMIADAS (Período Julio 90-Junio 91)

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL VIRUS DE LA BRONQUITIS INFECCIOSA AVIAR EN CENTRO AMERICA

ESCALANTE PAZ DE RAMIREZ, GLENDA MARINA
Y RICHTER M., FEDERICO
Escuela de Química Biológica.

DOI: <https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v9i1.394>

Licencia: CC-BY 4.0

I. SUMARIO

La industria avícola mueve anualmente grandes sumas de dinero por la importancia que tiene el consumo de huevos y carne de pollo en la población. Debido a las características particulares de producción en masa y mantenimiento de las aves, la transmisión de agentes infecciosos es inminente y por lo tanto esto permite que las enfermedades de origen vírico o bacteriano se diseminen en las parvadas representando uno de los problemas más grandes en la industria avícola.

La Bronquitis Infecciosa Aviar, es una infección causada por un Coronavirus, y se manifiesta por afecciones respiratorias y por una considerable baja en la postura de las aves; por lo cual tiene una gran importancia dentro de la avicultura. La profilaxis, es el método más adecuado para el control de esta enfermedad, y por ello es imprescindible que los planes de vacunación sean exitosos.

En la actualidad, la bronquitis Infecciosa Aviar ha cobrado mucha atención, pues durante los últimos años se han manifestado numerosos brotes de los cuales se ha aislado el virus a partir de aves que han sido vacunadas adecuadamente con vacunas comerciales. El presente estudio demuestra que las cepas aisladas de estas aves son nuevos serotipos, diferentes de los descritos previamente y diferentes a los utilizados para prevenir la enfermedad.

Se analizaron tres virus aislados de brotes de campo de Guatemala, El Salvador y Costa Rica; con el objeto de conocer si estos correspondían antigénicamente a las cepas vacunales Massachusetts y Arkansas usadas en dichos países. Y si entre ellas había también relación antigénica. Para ello con las cinco cepas anteriormente mencionadas se produjeron antisueros en aves libres de patógenos y anticuerpos contra BIA; cada uno de los virus fueron enfrentados a los cinco antisueros y además, a un suero control negativo. Se utilizó el método de Suero Neutralización en embriones de pollo, usando la técnica de suero constante y virus diluido. Con los resulta-

dos obtenidos de las suero neutralizaciones, se obtuvo el Índice Neutralizante en cada prueba estableciéndose si existía neutralización del virus por el antisuero. De estos resultados se concluye que el virus aislado en Guatemala, es antigénicamente diferente a las dos cepas vacunales usadas. El virus aislado en Guatemala, es antigénicamente diferente a las dos cepas vacunales usadas. El virus de El Salvador, en cambio corresponde antigénicamente a la cepa Arkansas. En el caso del virus de Costa Rica, se obtuvo neutralizaciones parciales en una vía, lo cual indica que éste posee relación con los demás virus; pero no se puede concluir sobre la identidad antigénica.

La Neutralización de cada virus con su suero homólogo, evidencian la existencia de suficiente cantidad de anticuerpos, en dichos sueros para neutralizar a un virus antigénicamente igual; la ausencia de anticuerpos en el suero control negativo, garantizan la confiabilidad de las pruebas.

Por los resultados obtenidos, se recomiendan estudios posteriores con los virus aislados incluyéndolos en planes de vacunación piloto, para poder evaluar la protección que proporcionan a las aves las vacunas experimentales, producidas con los virus locales en cada región.

II. INTRODUCCION

La Bronquitis Infecciosa Aviar (BIA) es una enfermedad viral de las gallinas, que se manifiesta por trastornos respiratorios y baja en la postura (1). Esta enfermedad fue descrita por primera vez en el año de 1931 y en los años consecutivos en distintas regiones del mundo por diversos autores, cobrando gran importancia (2).

La BIA es causada por un Coronavirus, constituido de 3 estructuras protéicas: las nucleoproteínas, la membrana matriz y las proteínas del peplómero (3). El período de incubación para esta enfermedad oscila entre las 18 horas y 6 días, y puede transmitirse fácilmente por vía respiratoria y digestiva con moco



tronqueal de aves enfermas (4). Después de un período de disnea, aparecen estertores y tos que pueden disminuir al cabo de 8-14 días; además en las aves jóvenes de unas seis semanas se puede evidenciar un retraso en el crecimiento. A menudo se encuentran las llamadas "falsas ponedoras" que tienen aspecto normal pero no ponen; los huevos puestos por aves afectadas son de cáscara blanda o arrugada, y por lo tanto no se consumen. (5).

La primera línea de defensa de las aves está compuesta por una serie de procesos locales incluyendo la fagocitosis; además se encuentran las células especializadas y los anticuerpos que componen el sistema inmune aviar (6). La defensa inmunológica contra el virus de la BIA, la constituyen la síntesis de anticuerpos locales presumiblemente IgA, que se encuentran protegiendo la tráquea y tracto respiratorio superior además se encuentra la inmunidad humoral. Los anticuerpos maternos, también del tipo IgG proveen a los pollitos de inmunidad durante las siguientes 3 semanas después del nacimiento (7).

Para el diagnóstico de la enfermedad se cuenta con un método directo, que consiste en el aislamiento del virus de aves afectadas de BIA; esto puede realizarse mediante inoculación de animales susceptibles a la enfermedad, inoculación en cultivos celulares, test de precipitación en agar, y el más usado, la inoculación en huevos embrionados de pollo (8). Para efectuar este último se escogen embriones de 9-11 días de incubación, a los cuales se les inocula exudado traqueal de las aves afectadas, y posteriormente se observan los efectos patológicos que causa el virus en ellos después de 5-7 días de incubación (9).

Dentro de métodos serológicos utilizados para medir los niveles de anticuerpos, se encuentran la hemaglutinación indirecta, ELISA, y la suero neutralización en embriones de pollo, que es el método de referencia (10).

Durante los últimos años se han presentado brotes de la enfermedad, de aves vacunadas adecuadamente con las vacunas comerciales existentes, estudios de laboratorio y de campo se han demostrado que éstas cepas son serotipos diferentes a las vacunales. Siendo la Profilaxis el método más efectuado para la prevención de la BIA, es indispensable usar en los planes de vacunación las cepas adecuadas, para que estos sean efectivos.

En el presente estudio se analizaron tres virus de brotes de campo de la enfermedad aislados de Guatemala, El Salvador y Costa Rica, y además las cepas vacunales Arkansas y Massachusetts, ésta última utilizada en los planes de vacunación en el área;

con el objetivo de ver si dichos virus pertenecían a las cepas vacunales y para establecer si son homólogos o no.

Para ello se utilizó la técnica de suero neutralización de embriones de pollo, analizando los efectos patológicos causados en los embriones.

III. MATERIALES Y METODOS

Se tomaron pollos de un día de edad, libres de vacunas y fueron tenidos durante 3 semanas en aislamiento para que eliminaran los anticuerpos maternos, posteriormente fueron divididos en seis grupos, a cada uno de los cuales se les inoculó uno de las cinco cepas de BIA, y el último grupo fue dejado sin vacunar para control negativo. Se vacunaron por vía nasal, revacunándose 2 veces con una diferencia de 1 semana entre cada vacunación. A las seis semanas de edad, fueron sangradas y formados los pool de cada grupo conteniendo los anticuerpos contra cada cepa.

Cada pool de sueros fueron enfrentados a cada uno de los virus mediante el método de suero neutralización de embriones de pollo de 9-11 días, usando la técnica de virus constante (diluido 1:8) y suero diluido. Para esto se realizaron diluciones desde 10⁻¹ a 10⁻⁶ de cada virus con solución salina estéril más antibióticos; y luego fueron mezclados con los antisueros.

Se marcaron siete grupos de embriones de pollo, cada uno constituido por cinco embriones, a los cuales se les inoculó 0.1 ml. Exactamente de mezcla de dilución, luego se incubaron durante 7 días observándolos a diario se descartaron los embriones muertos durante las 24 horas siguientes a la incubación, por considerarse contaminados con bacterias luego fueron analizados para establecer si estaban afectados por el virus de BIA, observando los tres signos clásicos: enanismo, encorvamiento y presencia de uratos en los riñones. Los embriones que presentaban estos signos fueron considerados como positivos.

Además fueron realizadas las titulaciones de los virus, inoculando 0.1 ml. de suspensión de cada dilución del virus puro, y procediendo exactamente de la misma forma.

Los resultados obtenidos fueron analizados por el método de Reed Munch para determinar los índices neutralizantes de cada suero neutralización y los títulos de cada virus.



IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Se determinó el título de cada uno de los virus en estudio, obteniéndose como resultados los siguientes: Mass 10^{7.2}; Ark 10^{7.5}; Ro-88 10^{7.3}; Elsa-89 10^{7.2} y Cri-89 10^{7.2}.

Las suero neutralizaciones realizadas con cada uno de los virus enfrentados a cada uno de los seis antisueros dieron como resultados las DN 50 que aparecen en el cuadro No. 1

Cuadro No. 1: Título de cada virus mezclado con cada antisuero

VIRUS		ANTISUEROS						
Nom	Título	Mass	Ark	Ro-88	Elsa-89	Cri-89	Control Negativo	
Mass	10 ^{7.2}	10 ^{4.2}	10 ^{7.0}	10 ^{7.0}	10 ^{6.7}	10 ^{6.6}	1.0 ^{7.2}	
Ark	10 ^{7.5}	10 ^{6.5}	10 ^{6.0}	10 ^{5.4}	10 ^{5.2}	10 ^{4.0}	1.0 ^{7.5}	
RO-88	10 ^{7.3}	10 ^{6.0}	10 ^{5.8}	10 ^{3.5}	10 ^{5.7}	10 ^{5.7}	1.0 ^{7.2}	
Elsa-89	10 ^{7.2}	10 ^{7.2}	10 ^{4.5}	10 ^{6.4}	10 ^{3.8}	10 ^{6.0}	1.0 ^{7.2}	
Cri-89	10 ^{7.2}	10 ^{7.0}	10 ^{7.0}	10 ^{6.7}	10 ^{6.3}	10 ^{4.2}	1.0 ^{7.2}	

La DN₅₀ o en Índice neutralizante (IN) de cada uno de los virus se determinó substrayendo del exponente del virus puro, el exponente del título del virus cuando éste se mezcló con el antisuero en estudio. El criterio establecido para indicar si existe neutralización significativa se consideró cuando el título del virus bajó en 2 logaritmos o más. Si la baja es de 1-2 se consideró

una suero neutralización parcial y por consiguiente no significativa; y abajo de 1, se consideró cuando el título del virus bajó en 2 logaritmos o más. Si la baja es de 1-2 se consideró una suero neutralización parcial y por consiguiente no significativa; y abajo de 1, se consideró que no existe neutralización. Cuadro No. 2

Cuadro No. 2: INDICES NEUTRALIZANTES DE CADA PRUEBA DE SUERO NEUTRALIZACION

VIRUS	ANTISUEROS						
Nom	Mass	Ark	Ro-88	Elsa-89	Cri-89	Control Negativo	
Mass	3.0	0.2	0.1	0.4	1.7	0	
Ark	0.9	2.5	1.1	2.3	1.5	0	
RO-88	1.3	1.6	3.8	1.5	1.5	0	
Elsa-89	0.1	2.7	1.8	3.4	1.3	0	
Cri-89	0.3	0.3	0.5	0.6	3.0	0	

Tomando en cuenta estos índices de neutralización, se estableció cuáles de los antisueros

neutralizan a los virus vacunales y los virus aislados en la región. Cuadro No. 3



Cuadro No. 3: PATRONES DE NEUTRALIZACION

VIRUS	ANTISUEROS				
	Mass	Ark	Ro-88	Elsa-89	Cri-89
Mass	N	-	-	-	P
Ark	-	N	P	N	P
RO-88	P	P	N	P	P
Elsa-89	-	N	P	N	P
Cri-89	-	-	-	-	N

N = Neutralización total
P = Neutralización parcial
- = No hay neutralización

Puede observarse que cada antisuero presenta neutralización con su antisuero homólogo, lo que comprueba la presencia de suficientes anticuerpos en cada antisuero preparado.

Como se puede observar en el Cuadro No. 1 todos los virus presentan un título mayor de $10^{7.2}$ /ml. Por otro lado, los títulos de los virus obtenidos cuando se mezclaron con el suero control negativo, confirman los títulos de los virus obtenidos cuando se mezclaron con el suero control negativo, confirman los títulos de cada virus sólo, ya que las variaciones entre ambos títulos son mínimas.

De los resultados obtenidos se puede establecer que el antisuero Ro-88 correspondiente a Guatemala, además de neutralizar a su virus homólogo también neutraliza parcialmente al virus Arkansas y al virus Elsa-89. lo cual sugiere relación antigénica, no solo entre el virus vacunal Arkansas sino también con el virus aislado de El Salvador. Además también evidencia que el virus vacunal Mass no guarda relación antigénica con el virus aislado en el campo, en Guatemala, pese a la neutralización parcial del antisuero Mass contra el virus Ro-88 de Guatemala.

El antisuero Elsa-89 además de neutralizar a su virus homólogo, también neutraliza al virus Arkansas. Esta neutralización se da en ambas vías, ya que el antisuero Ark. También presenta un índice neutralizante alto (2,7) frente al virus Elsa-89. Esto sugiere que el virus Arkansas y que ambos virus Ro-88 y Elsa-89 están antigénicamente relacionados con el virus

Arkansas y que ambos son distintos al virus Mass, usado en los planes de vacunación en ambos países para la prevención de la de BIA. Estos hallazgos, por lo menos explican en parte, el problema del apareamiento de brotes de ésta enfermedad en dichos países, pues las aves no poseen ninguna inmunidad contra las cepas causantes de los brotes.

En Guatemala, es aconsejable ensayar vacunaciones con la cepa local Ro-88, y según los resultados reestructurar los planes de vacunación, empleando esta cepa en lugar, o combinada con otras cepas.

También es necesario continuar estudios con la cepa Arkansas y su relación con la cepa Ro-88, para evaluar el grado de inmunidad que proporciona a las aves, en dicho país.

Respecto a El Salvador, es recomendable la implementación de la cepa Arkansas en los planes de vacunación, ya que según los trabajos realizados con la cepa aislada en el presente estudio, corresponde antigénicamente a dicha cepa Arkansas, y no así con la cepa Mass. Además se sugiere continuar con el aislamiento y tipificación de virus de campo, para verificar que todos son antigénicamente similares, o por el contrario que son diferentes.

Hay que notar que el virus Cri-89 neutraliza parcialmente a todos los virus, Cuadro No. 3) pero ningún antisuero neutraliza al virus Cri-89, lo cual sugiere neutralización parcial en una sola vía; esto indica que este virus tiene relación antigénica con las cepas utilizadas; ya que no se puede concluir que antigénicamente pertenezca a ninguna de ellas. En



Costa Rica, se consideraba hasta hace unos cuantos meses que no existía BIA, sin embargo, aislamientos de aves con problemas respiratorios y otros estudios al respecto evidencian la presencia de ésta enfermedad en el país. Los resultados no son conclusivos en cuanto a la identidad de la cepa, sin embargo sugieren que el virus Crj-89 tiene alguna relación con la cepas vacunales. Es recomendable continuar estudios con dicho virus para obtener resultados conclusivos y la estructuración de planes de vacunación que se adecúen a las necesidades de éste país; para ello debe intentarse al aislamiento de otras cepas y su respectiva caracterización.

El suero control no presentó anticuerpos contra ninguno de los cinco virus analizados, de lo cual se puede deducir que no existen anticuerpos contra ninguno de los cinco virus analizados, de lo cual se puede deducir que no existen anticuerpos inespecíficos que pudiesen inducir falsas neutralizaciones.

Por último, el hecho de que los cinco antisueros neutralizan en más de un 99% a su respectivo virus demuestra que en efecto cada uno de ellos contenía suficientes anticuerpos para neutralizar un virus antigénicamente igual.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De los virus analizados ninguna corresponde antigénicamente a la cepa Massachusetts, usada en los planes de vacunación para la prevención de la BIA en el área. El virus Ro-88 proveniente de Guatemala, es antigénicamente diferente a la cepas vacunales usadas en el presente estudio. El virus Elsa-89 aislado de El Salvador, corresponde antigénicamente a la cepa Arkansas. El virus Cri-89 corresponde a Costa Rica, tiene relación antigénica con las cepas utilizadas, pero los resultados no son suficientes para establecer si pertenece a alguna de ellas. Los tres virus analizados son antigénicamente heterólogos, aunque se evidencia que sí guardan relación entre ellos. En los tres países es necesaria la reestructuración de los planes de vacunación contra la BIA.

Por todo lo anterior se recomienda continuar estudios con virus de BIA, aislados de nuevos brotes de la enfermedad, y establecer si corresponden antigénicamente a los analizados en el presente estudio. Establecer el serotipo a que pertenecen los virus Ro-88, Elsa-89 y Cry-89. ensayar vacunaciones con las cepas locales en cada región, evaluando la inmunidad que proporcionan, para la posterior reestructuración de los planes de vacunación. En El Salvador, es aconsejable la implementación de la cepa Arkansas en

los planes de vacunación, evaluando la inmunidad que provee. Continuar los estudios con virus aislados de Costa Rica, y su tipificación, para establecer su identidad antigénica; y la consecutiva estructuración de planes de vacunación.

VI. REFERENCIAS

1. Kenton P.J. Infections Bronchitis. Poultry Sc, 1984;25(4):801-09.
2. Fritzsche K, Gerriets E. Enfermedades de la Aves. 2 ed. España: Acribia, 1964 461 p(179-190).
3. Vargas J. Enfermedades aviares del oeste de los E.E.U.U. Ind. Av. 1989.28(4) :11-12.
4. Mohammad A. et al. Efecto of infectious bronchitis virus on laying chickens. Av Di 1986,30(4):644-647, <https://doi.org/10.2307/1590561>
5. Hughes WF. et al. svin Immunology. West Poultry 1978;28:(4):11-12
6. Tizard IR. et al. The immune responses. West Poultry 1978;28:3-5
7. Cunningham CH. Avian infectious bronchitis: pathology and immunity. West poultry 1988;28:36-39.
8. Maiti NK, et al. Characterization of a new infectious bronchitis virus from intestine and reproductive organs of layings hens with dropped egg productions. Av. Dis 1985;29(2):546-551, <https://doi.org/10.2307/1590512>
9. Cowen BS, et al. Characterization of a new infectious bronchitis virus isolate. I. Serological and pathogenecity studies of Clark 33 av Dis 1971 ;15(3):51 8-526, <https://doi.org/10.2307/1588728>
10. Johnson RB, Marquardt W. The neutralizing characteristics of strains of infectious bronchitis virus as measured by the constat-virus variable serum method in chicken tracheal cultures. Av. Dis 1975; 19(1): 82-90, <https://doi.org/10.2307/1588958>

NOTA* La tesis de la Licda. Glenda Escalante fue premiada como la mejor tesis de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia para el año 1990-1991.



Copyright (c) 1993 Escalante Paz de Ramírez, Glenda
Marina, y Federico Richter M.



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato—
y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier
propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a
la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero
no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la
obra.

[Resumen del licencia](#) - [Texto completo de la licencia](#)