

ACTUALIDADES EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

Rafael Fernández, Francisco Perozo, Francisco Rojo, Irma Reyes*. 2016. Boletín El Sitio Avícola 27.09.16
*Servicios técnicos de Merial Latinoamérica.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades de las aves](#)

INTRODUCCIÓN

El control de la enfermedad e incluso pensar en la erradicación de la misma, debe pasar necesariamente por el diagnóstico óptimo, medidas adecuadas de bioseguridad, la preservación del sistema inmune de las aves y la implementación de programas de vacunación ajustados a la realidad de la explotación.



Aves mostrando signos de depresión e inflamación periocular luego de un desafío con virus velogénico viscerotrópico de la enfermedad de Newcastle.

La enfermedad de Newcastle (ND, por sus siglas en inglés) causada por un Paramyxovirus aviar del serotipo 1 (NDV por sus siglas en inglés) es una de las enfermedades más costosas a las que se enfrenta la industria avícola, no solo por sus efectos en la sanidad y productividad de los lotes en el caso de un brote, sino por los costos inherentes a las acciones de control y a las pérdidas de mercados por barreras comerciales en su presencia. En países con brotes, como es el caso de varios países de Latinoamérica, Asia y África, es mucho lo que se ha ensayado para su control con resultados no siempre satisfactorios.

El control de la enfermedad e incluso pensar en la erradicación de la misma, debe pasar necesariamente por el diagnóstico óptimo, medidas adecuadas de bioseguridad, la preservación del sistema inmune de las aves y la implementación de programas de vacunación ajustados a la realidad de la explotación.

En la actualidad los esfuerzos de investigación se dirigen al desarrollo de métodos de diagnóstico y tipificación que permitan el análisis filogenético y epidemiológico con la finalidad de conocer mejor a una enfermedad que fue descubierta en 1926 y que casi 100 años después continúa siendo tema de preocupación para la industria.

Adicionalmente, se logró el desarrollo de vacunas vectorizadas que se constituyen en una herramienta alternativa de control para las áreas donde el nivel de desafío permite programas más laxos de control y más recientemente el desarrollo de la nueva generación de vacunas vivas que para Newcastle la nueva presentación galénica (tabletas efervescentes) de la cepa VG/GA que ha sido utilizada mundialmente para el control efectivo de la enfermedad. Esta nueva presentación permite la simplificación de procesos de vacunación que asistirán en un mejor control de los virus de campo.

En el presente escrito se incluyen aspectos básicos sobre la enfermedad, su diagnóstico e investigaciones recientes sobre estrategias de control.

DEFINICIÓN DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

Para la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), para que un aislamiento del NDV sea considerado como virulento, debe presentar un índice de patogenicidad intracerebral (IPIC) mayor a 0.7 y/o presentar múltiples aminoácidos básicos en el sitio de corte de la proteína de fusión y el aminoácido Fenilalanina en la posición 117.

En base a este criterio, existen cepas no virulentas como las del patotipo lentogénico y cepas virulentas donde se incluyen las cepas de los patotipos mesogénico y velogénico, pudiendo estas últimas ser neurotrópicas o viscerotrópicas. Los patotipos surgen de la necesidad de diferenciar las distintas formas clínicas de la enfermedad causadas por cepas que son indistinguibles serológicamente.

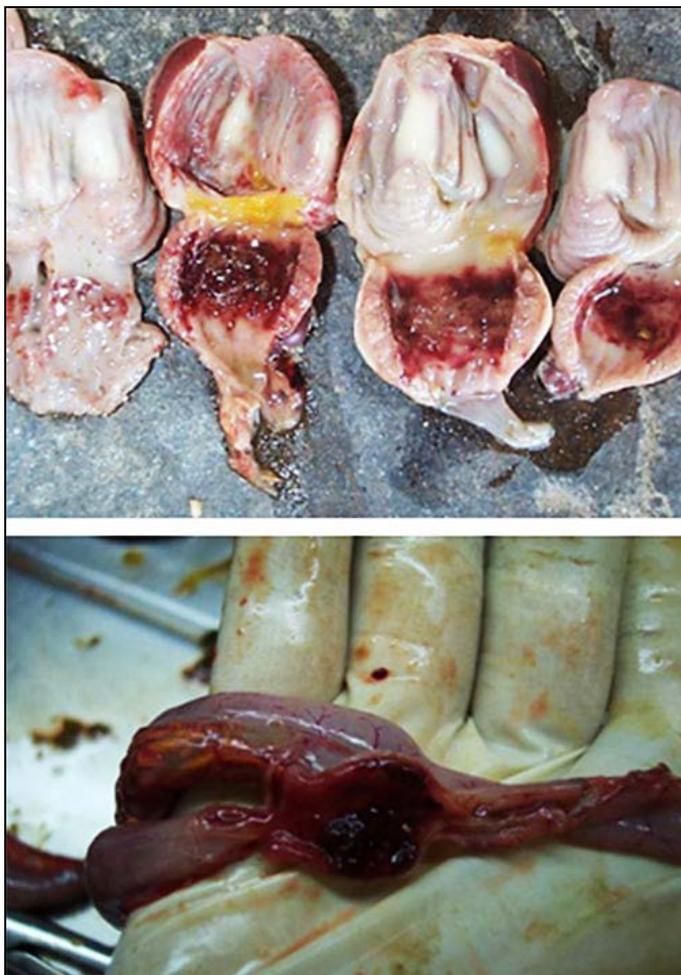
CARACTERÍSTICAS Y TIPIFICACIÓN DEL VIRUS

El NDV es un virus con ARN encapsulado de cadena simple y sentido negativo que pertenece a la familia Paramyxoviridae, género Avulavirus (Alexander, 2001). Se trata de un virus con un genoma no segmentado que codifica para 6 proteínas estructurales: hemoaglutinina-neuraminidasa (HN), proteína de fusión (F), nucleocápsido (NP), matriz (M) y fosfoproteína (P) y polimerasa (L), la proteína V relacionada con la inhibición de la respuesta antiviral se genera a partir del gen P mediante edición del ARN y se considera no estructural. Las glicoproteínas HN y F son las inmunológicamente más importantes pues contienen los determinantes antigénicos responsables del desarrollo de la inmunidad protectora.

El sitio de corte de la proteína de fusión es un factor determinante en la patogenicidad, constituyéndose en el único marcador de virulencia conocido para la enfermedad de Newcastle (Alexander, 1998, Marín y col. 1996). Contrario a los virus lentogénicos, los virus velogénicos presentan una mayor cantidad de aminoácidos básicos en el sitio de corte de la proteína de fusión y el aminoácido Fenilalanina en la posición 117, lo cual es reconocido específicamente por la proteasa furina que se encuentra distribuida en un amplio rango de tejidos del ave, haciendo más rápida y eficiente la colonización por parte de los virus velogénicos.

La detección molecular de virus de campo acompañada de la secuenciación directa de nucleótidos y la generación de secuencias predichas de aminoácidos permiten la genotipificación del virus. Los virus se agrupan en función a la secuencia de la proteína de fusión o de otras proteínas estructurales. Hasta ahora, no se ha sido demostrado que las diferencias en el genoma determinen variaciones importantes en los péptidos de reconocimiento antigénico, por lo que todos los virus de la enfermedad de Newcastle permanecen dentro de un mismo serotipo y en consecuencia los anticuerpos inducidos por cualquiera de las cepas utilizadas en la vacunación deben ser capaces de neutralizar los virus de campo.

¿Entonces por qué aparecen brotes de la enfermedad en lotes vacunados? La respuesta es el resultado de la conjunción de múltiples factores relacionados a la ecuación: vacunación = protección. Los principales factores son: patogenicidad del virus de campo (velocidad de replicación y distribución tisular), calidad y manejo de la vacuna (título, aplicación) y las condiciones generales e individuales de las aves vacunadas (calidad sanitaria, estatus inmunológico, alimentación, etc.).



Lesiones causadas por el virus de la enfermedad de Newcastle (proventrículo y tonsilas cecales), el virus es linfocitotrópico y genera lesiones en órganos donde están presentes linfocitos

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas puede dividirse en diagnóstico presuntivo y diagnóstico definitivo. El presuntivo se basa en la observación de signos clínicos y resultados serológicos. Debido a que la ND no presenta signos patognomónicos, debe realizarse un buen diagnóstico diferencial que incluya otras enfermedades respiratorias y sistémicas de origen viral y/o bacteriano. Una dificultad adicional del diagnóstico de ND mediante signos clínicos es que aves vacunadas pueden infectarse y diseminar el virus sin que este evidencie todo su potencial de virulencia.

Es importante mencionar que las presentaciones clínicas tradicionales que incluyen cuadros respiratorios severos son cada vez menos frecuentes. En países endémicos los cuadros más comunes incluyen alta mortalidad precedida por depresión severa, hemorragias entéricas y manifestaciones nerviosas en aves vacunadas.

El aislamiento viral el cual se realiza a partir de hisopos orofaríngeos, traqueales o cloacales y muestras de tejido. Los virus virulentos se aíslan comúnmente de pulmón, bazo, hígado, corazón y cerebro. Los hisopos y muestras de tejido deben ser transportados en un medio con antibióticos evitando estrés por calor y procesarse lo antes posible. Si bien el virus de Newcastle crece en distintos cultivos celulares incluyendo cultivo primario de células de embrión de pollo, el medio preferido para aislamiento y amplificación del virus son los huevos embrionados de pollo de 9 a 11 días de edad.

El diagnóstico molecular y la genotipificación clasifican a los virus con base a las características de su genoma, a partir del cual se puede predecir el fenotipo de los virus. Existen diversas pruebas moleculares desarrolladas para el diagnóstico de la enfermedad.

Además de la prueba de RT-PCR que se fundamenta en la amplificación de una región altamente específica del genoma del virus, se han desarrollado técnicas más rápidas como la prueba de RT-PCR en tiempo real, así como pruebas que permiten la detección simultánea del NDV y otros virus aviares (Multiplex RT-PCR). También se han desarrollado sistemas de detección y patotipificación del virus utilizando hibridación de sondas fluorogénicas dirigidas al segmento del gen que codifica para el sitio de corte de la proteína de fusión o mediante el análisis de las curvas de positividad generadas por la prueba RT-PCR en tiempo real.

La evaluación histopatológica de tejidos provenientes de aves afectadas por NDV tiene escaso valor diagnóstico, puesto que no existen lesiones patognomónicas de la enfermedad. En el sistema nervioso se reporta encefalomiелitis no purulenta con degeneración neuronal, focos de gliosis e infiltración perivascular de linfocitos, así como necrosis, congestión y hemorragia en diversos órganos.

El tipo y extensión de las lesiones se ve afectada por el tipo de virus y la ruta de inoculación. Técnicas histopatológicas como la inmunohistoquímica que detecta antígenos específicos del virus y la hibridación in situ que amplifica el genoma del virus en láminas de tejido fijadas con formalina, han sido utilizadas para detección y estudios de patogenia del virus de Newcastle, pero no forman parte del repertorio rutinario de pruebas diagnósticas para la enfermedad.

En síntesis, el diagnóstico definitivo debe incluir aislamiento del agente causal y en el caso de Newcastle la patotipificación biológica o molecular del virus, pues si bien los virus virulentos de Newcastle son endémicos en la industria avícola de nuestros países, los virus lentogénicos también lo son, lo que genera la necesidad una diferenciación adecuada.

RESPUESTA INMUNE CONTRA NEWCASTLE

La inmunología aviar es una ciencia en pleno desarrollo, hasta ahora la mayor parte del conocimiento que existe sobre la respuesta inmune en medicina Veterinaria es el resultado de la extrapolación de resultados de experimentos diseñados para evaluar los componentes de la respuesta inmune en los humanos. Los mecanismos de respuesta inmune en las aves y los genes que la codifican, están sometidos a una intensa presión de selección en una carrera “armamentística” contra los patógenos (perder la guerra implica la extinción de la especie animal o del microorganismo).

La respuesta inmune varía según el tipo de patógeno para describir la respuesta inmune contra Newcastle se diseñó un diagrama de flujo para mostrar paso a paso una respuesta, es importante hacer la salvedad de que los procesos no son estáticos y que ocurren en muchas ocasiones de manera conjunta y que la mayoría de las reacciones humorales inespecíficas representadas por los interferones y citoquinas son redundantes y se interrelacionan entre sí.

Barreras físicas (piel, plumas saliva, lágrimas, etc.)



Si el patógeno vence las barreras físicas ocurre la infección viral de un hospedador susceptible, a partir de aquí, el virus tiene que enfrentarse a los mecanismos internos de defensa.



Mecanismos intracelulares de defensa

- ◆ Apoptosis, fagosomas, mecanismos de interferencia de ARN (siRNA) y otras estrategias antivirales modificaciones en la transcripción y traducción proteica en las células.
- ◆ Estos mecanismos no se consideran propios de la respuesta inmune, sin embargo afectan al virus en su capacidad de infectar la célula. La respuesta inmune solo empieza luego de que la replicación viral le permite al ave reconocer que está siendo atacado.



Respuesta inmune

- ◆ Primero... la respuesta inmune innata...
- ◆ La inmunidad innata es el único mecanismo de defensa presente durante el primer encuentro del patógeno y el ave y es el único sistema capaz de informar al componente adaptativo del peligro.

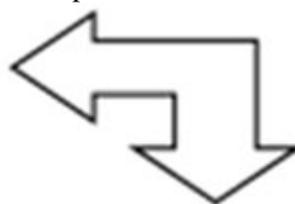


Reconocimiento antigénico

Receptores de reconocimiento de patrones que reconocen patrones moleculares asociados a los patógenos presentes en todos los microorganismos.

- ◆ Existen dos tipos de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs):
 - PRRs soluble: incluyen CD14 y la familia de las colectinas.
 - PRRs asociados a células: receptores tipo toll 2, 3, 4, 7, 8 and 9 relacionados con antígenos virales como: motivos CpG, ARN de doble cadena, ARN de cadena simple ricos en Uracilo.

Sin reconocimiento de Ag = No hay respuesta



Reconocimiento = inflamación

INFLAMACIÓN

Activación de las células efectoras de la inmunidad innata mediante estímulos físicos y humorales. Producción de citoquinas (IL 1, IL6, IL12, INF, TNF).

Reclutamiento y activación de células fagocíticas (amplificación de la respuesta).

- ◆ **Macrófagos:** fagocitosis, metabolitos intermediarios de oxígeno, producción de citocinas (IL6, IL12, TNF α).
- ◆ **NK:** reconocimiento de MHC I alterado, citólisis y producción de INF α por parte de las células NK.
- ◆ **Células dendríticas:** procesamiento antigénico y activación, producción de citoquinas.



Inducción de estado antiviral (INF α , INF β , INF γ , TNF α)

- ◆ Las células infectadas mueren por apoptosis, por paralización de la maquinaria celular de síntesis proteica, inhibición de la proliferación celular, efecto paracrina (células vecinas en estatus antiviral liberando citoquinas), efectos sistémicos (fiebre inflamación, síntesis y liberación de proteínas de fase aguda, etc.)



Activación complemento

(Funciones: citolisis, opsonización, neutralización)



Transición de la respuesta innata a la adquirida

Las células presentadoras de antígeno activadas (MHC clase II), macrófagos activados y las citoquinas proinflamatorias generan la alarma para la activación de la respuesta inmune adaptativa.



Inmunidad adaptativa

- ◆ Es altamente específica, la activación y la expansión clonal que sigue al reconocimiento antigénico son dirigidas a la eliminación del virus y a la formación de células memoria.
- ◆ Existe un “tiempo muerto” entre el reconocimiento antigénico y la actividad de las células efectoras.
- ◆ La producción de anticuerpos puede llevarse hasta dos semanas.
- ◆ La respuesta celular de procesamiento y presentación antigenica. Para la protección contra la mayoría de los virus se requiere la participación activa de ambos segmentos de la respuesta inmune.

Células de la respuesta inmune adaptativa

- ◆ Linfocitos T (CD4 Th1 y Th2/CD8 citolíticas) madurados en el timo y linfocitos B madurados en la bolsa de Fabricio.
- ◆ Células presentadoras de antígeno = macrófagos y células dendríticas (proporcionan señales primarias y secundarias para la activación de linfocitos T y B).

Linfocito T CD4

- ◆ Tipo Th1 expresan interleuquinas IL-2, IL-12 y IFN γ estimulando la reacción proinflamatoria, y la actividad de los T citotóxicos.
- ◆ Tipo Th2 expresan IL-4; IL-5 y IL-10 (mediadores de las respuestas alérgicas y la producción de anticuerpos).

T citotóxicos CD8

- ◆ Luego de la expansión clonal que ocurre en los centros germinales de los agregados linfoides pertenecientes a los órganos linfoides secundarios los linfocitos T citotóxicos reconocen péptidos foráneos asociados con MHC clase I en las células infectadas.
- ◆ Luego del contacto, los T CD8 destruyen las células expresando los peptidos virales con gránulos citotóxicos (perforinas) o induciendo apoptosis.
- ◆ Tanto las CD4 como las and CD8 T permanecerán en bajos números como células memorias para actuar en una segunda estimulación antigénica.



En las infecciones virales predominan las respuestas acciones Th-1 / CTL induciendo una respuesta de citoquinas proinflamatorias con la finalidad de destruir las células infectadas o de eliminar el virus de las células (INF γ and TNF α).



Células B

- ♦ La producción de anticuerpos es muy importante en la inmunidad antiviral y requiere de reconocimiento antigénico por la IgM de superficie que actúa como receptor de linfocitos B activación (señales primarias y secundarias), producción inicial de anticuerpos, cambio de isotipo (IgM, IgG, IgA) y hipermutación somática para incrementar la afinidad por el epítopo. Algunas células B se convierten en memoria.
- ♦ Los anticuerpos tienen un rol muy importante no solo para la neutralización viral pero también para reacciones como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos o estimulando células con receptores para los anticuerpos como las células NK (interacción respuesta adaptativa e innata).



Inmunidad mucosal

- ♦ Comúnmente es la primera respuesta adaptativa que se activa debido a que los patógenos utilizan las mucosas como puerta de entrada.
- ♦ Se lleva a cabo en el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT).
- ♦ Básicamente IgA producida localmente e IgG trasudada neutralizan a los virus en su paso hacia el organismo. El MALT cuenta con la presencia de una consistente Inmunidad mediada por células.

CONTROL: ASPECTOS BÁSICOS E INVESTIGACIONES RECIENTES

Bajo condiciones de campo, uno de los factores más importantes para prevenir la introducción del NDV y su diseminación en ocasión de un brote son las condiciones como se crían las aves y el nivel de bioseguridad implementado.

La vacunación es una herramienta fundamental y muy útil, sin embargo, por sí sola no es suficiente para el control de la enfermedad y debe estar acompañada de buen manejo y de mucho sentido común en la cría comercial de aves domésticas. Se debe enfatizar que bajo ninguna circunstancia se puede visualizar la vacunación como una alternativa a las buenas prácticas de manejo y a la bioseguridad.

En las explotaciones comerciales, la realidad es que los esquemas de vacunación deben planificarse a la medida de cada integración, se debe tomar en cuenta el tipo de ave, la carga viral y el tipo de desafío. Es vital poseer la mayor información posible sobre el virus que afecta la zona (caracterización biológica y molecular) y sobre el estatus inmunológico de las aves.

Para la vacunación inicial contra NDV la vacuna de elección es aquella que induce una respuesta inmune protectora con un mínimo de reacciones respiratorias.

La vacuna viva inicial debe ser administrada al día de edad a pesar de la presencia de anticuerpos maternos con la finalidad de estimular la protección local (inmunidad mediada por células) inducida por la replicación viral en el epitelio respiratorio y/o digestivo.

Las revacunaciones potencian la inmunidad (respuesta inmune secundaria) lo que se evidencia en un incremento de los títulos de anticuerpos. Las cepas con enterotropismo son capaces de proporcionar niveles altos de protección con escasas o nulas reacciones post-vacunales.

En varios países de Latinoamérica y como consecuencia del alto nivel de desafío presente, la vacunación al día de edad con cepas que se replican tanto en el epitelio respiratorio como en el digestivo (VG/GA) o de cepas enterotrópicas asintomáticas (V4, Ulster), acompañadas de vacunas inactivadas y revacunaciones a campo, es una práctica común con buenos resultados.

Adicionalmente, se han desarrollado productos inactivados en aceite para ser aplicados por las vía subcutánea o intramuscular al día 1, estas vacunas son más concentradas que las vacunas oleosas tradicionales. El efecto de la asociación positiva entre altas dosis y respuesta a las vacunas inactivadas ha sido claramente demostrado.

La vacuna oleosa al día 1 es una práctica exitosa en México, Colombia y Venezuela (en regiones de México se repite la vacuna oleosa en producción).

Las vacunas inactivadas reúnen las siguientes características:

- ♦ Presentan una alta carga antigénica.
- ♦ Retarda la liberación, en consecuencia, se espera de ellas una respuesta lenta.
- ♦ Inducen principalmente una respuesta humoral.
- ♦ Adyuvante induce inflamación que conlleva a un mayor reconocimiento antigénico y mejor respuesta inmune.
- ♦ Es dosis dependiente, lo que implica que debe entrar y quedarse en el sitio de inyección para ser efectiva.

El número de revacunaciones varía entre países e incluso entre zonas de una misma compañía por lo que la recomendación al respecto debe ir acompañada de un análisis de los beneficios y riesgos implícitos en la aplicación del biológico. Sin embargo, los beneficios de las revacunaciones están condicionados a la capacidad de respuesta inmunológica.

Un ave inmunosuprimida incapaz de responder adecuadamente a la vacunación inicial, no tiene las herramientas (linfocitos T y B memoria) para responder a vacunaciones secundarias, lo que debe ser considerado cuando se aplican dosis adicionales a nivel de campo.

La utilización de vacunas vectorizadas (vector HVT) contra ND está siendo evaluada diariamente en campo en múltiples países, las primeras conclusiones generales apuntan hacia la necesidad de complementar la protección conferida por este tipo de vacunas con vacunas vivas al día de edad y probablemente un refuerzo de campo dependiendo del nivel de desafío.

El inicio de una protección efectiva se ubica entre las tres y cuatro semanas de vida, la vacunación con vivas permitirá proteger el ave en caso de un desafío más temprano.

Las vacunas vivas liofilizadas que se han utilizado por los últimos 50 años han demostrado su utilidad en el control de Newcastle, sin embargo su eficacia está asociada a buenas prácticas de preservación, preparación y aplicación por lo que cualquier mejora técnica que permita la simplificación de los procesos de vacunación redundará en una mejor protección de las aves.

La más reciente innovación en la vacunación contra ND, la representan las vacunas liofilizadas en forma de tabletas efervescentes que presentan las ventajas de ser **seguras** para el operador (menos accidentes laborales pues no se manipula vidrio o jeringas), seguras para las aves (bioequivalencia con la cepa VG/GA avinew liofilizada), **convenientes** pues disminuyen los tiempos de preparación y la posibilidad de error en el mismo. También son más **amigables con el medio ambiente** disminuyendo nuestra huella de carbono.

CONCLUSIONES

La presencia de Newcastle velogénico es un problema multifactorial donde resaltan el tema de la bioseguridad y calidad en el manejo. El diagnóstico de la enfermedad debe pasar por el aislamiento y patotipificación de los virus responsables de los brotes. La innegable presencia de virus virulentos en la industria debe ser una alerta para extremar las medidas que impidan la entrada y/o diseminación del virus.

Las recomendaciones de manejo más importantes que deben acompañar a las medidas mínimas de bioseguridad, se relacionan con el tiempo de vacío de las granjas y una adecuada desinfección entre lotes. El programa de vacunación como estrategia de control debe ser integral y debe cuidar la inmunocompetencia del ave aprovechando toda la tecnología disponible.

Volver a: [Enfermedades de las aves](#)