



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“EVALUACIÓN DE CINCO PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN POLLOS DE ENGORDE”.

Tesis previa a la obtención
del Título de Médico
Veterinario Zootecnista.

AUTORES:

JOSÉ ALFREDO BERNAL ÁVILA
DAYANA LISETH GONZÁLEZ GUZMÁN

DIRECTOR:

Dr. FABIÁN ASTUDILLO RIERA M.V.Z., Mg.Sc.

CUENCA - ECUADOR

2015



RESUMEN

En la presente investigación se evaluó la eficacia de diferentes planes de vacunación contra la enfermedad de Newcastle a los 49 días de edad mediante titulación de anticuerpos (ELISA) en pollos de engorde. La investigación experimental se llevó a cabo en la granja de Irquis de la Universidad de Cuenca. Se usaron 5 planes de vacunación y un control con 25 aves en cada unidad experimental y cuatro repeticiones de las mismas. Los planes aplicados fueron los siguientes: 1) Vacuna Vectorizada (Día 1, Iny); 2) Vectorizada (Día 1, Iny) + Virus Vivo Modificado (Día 23, La sota, ojo); 3) Virus Vivo Modificado Individual (Día 8, clon 30, ojo) + Revacunación (Día 23, clon 30, ojo); 4) Virus Vivo Modificado Masivo (Día 8, clon 30, agua) + Revacunación (Día 23, clon 30, agua); 5) Emulsificada (Día 8, Iny.) + Virus Vivo Modificado (Día 8, La Sota, ojo); y se incluyó un control sin vacunación. El estudio cuantitativo fue evaluado al final del ciclo productivo mediante la prueba de ELISA.

La data se realizó a través de un ANOVA utilizando el paquete estadístico SPSS® 22, previamente realizada la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). De acuerdo a la prueba de Duncan podemos confirmar que existen diferencias estadísticas, obteniendo homogeneidad entre los tratamientos 1, 2, 3, 4 y control, y diferencia en el tratamiento 5. Podemos concluir que de todos los planes de vacunación, la aplicación de la vacuna Emulsificada+ La Sota presentó mayor titulación de anticuerpos frente al resto de tratamientos.

PALABRAS CLAVE: NEWCASTLE, VACUNACIÓN-POLLOS, VIRUS DE NEWCASTLE, VEN, ANTICUERPOS EN POLLOS DE ENGORDE, IRQUIS-CUENCA.



ABSTRACT

This research aimed to evaluate the efficacy of five plans vaccination Newcastle disease at 49 days of age by titration of antibodies (ELISA) in broilers. The experimental research was conducted on the farm Irquis University of Cuenca. 5 vaccination plans and control with 25 birds in each experimental unit and four replications of them were used. The plans implemented were: 1) Vaccine Vectorized (Day 1, Iny); 2) Vectorized (Day 1, Iny) + Modified Live Virus (Day 23, La Sota, eye); 3) Individual Modified Live Virus (Day 8, clone 30, eye) + revaccination (day 23, clone 30, eye); 4) Massive Modified Live Virus (Day 8, clone 30, water) + revaccination (day 23, clone 30, water); 5) emulsified (Day 8, Iny) + Modified Live Virus (Day 8, La Sota, eye).; and a control without vaccination was included. The quantitative study was evaluated at the end of the production cycle by ELISA.

The data was performed using an ANOVA using the statistical package SPSS 22, previously held the normality test of Shapiro-Wilk ($p > 0.05$). According to Duncan's test we can confirm that there are statistical differences, obtaining homogeneity between treatments 1, 2, 3, 4 and control, and treatment difference 5. We can conclude that all vaccination plans, the implementation of the emulsified + La Sota vaccine had higher antibody titers compared to other treatments.

KEYWORDS: NEWCASTLE, VACCINATION-CHICKENS, NEWCASTLE VIRUS, VEN, ANTIBODIES IN BROILERS, IRQUIS-CUENCA.



ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	15
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	18
1.	SISTEMA INMUNE AVIAR.....	18
2.	ENFERMEDAD DE NEWCASTLE	22
2.1	Historia y epidemiología	22
2.2	Etiología.....	24
2.3	Proteínas virales.....	25
2.4	Replicación viral.....	26
2.5	Resistencia del virus.....	27
2.6	Definición.....	28
2.7	Transmisión	29
2.8	Período de incubación	30
2.9	Patogénesis y signos clínicos	30
2.10	Lesiones macroscópicas.....	32
2.11	Histopatología.....	34
2.12	Diagnósticos	35
2.12.1	Diagnóstico clínico.....	35
2.12.2	Diagnóstico diferencial	35
2.12.3	Diagnóstico de laboratorio.....	36
2.13	Serología	37
2.14	Prevención y control	39
2.14.1	Vacunación para la enfermedad de Newcastle.....	41
2.14.2	Tipos de vacunas	42
2.14.2.1	Vacunas de virus activo modificados o atenuados:.....	42
2.14.2.2	Vacunas de virus inactivados:.....	43
2.14.2.3	Vacunas Recombinantes:	44
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	46
1.	MATERIALES	46
1.1	Recursos materiales disponibles:	46



1.2 Recursos materiales requeridos:	46
2. MÉTODOS.....	49
2.1 Área de estudio.....	49
2.2 Metodología para la Investigación Experimental	50
IV. RESULTADOS	56
V. DISCUSIÓN.....	63
VI. CONCLUSIONES	69
VII. RECOMENDACIONES.....	70
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
IX. ANEXOS.....	76



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estadísticos de resumen de anticuerpos en aves de engorde a los 49 días de edad.	56
Tabla 2. Prueba estadística paramétrica: ANOVA.....	58
Tabla 4. Contrastes entre tratamientos con su respectivo p-valor.	59



LISTA DE ILUSTRACIONES

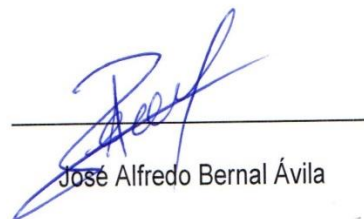
Ilustración 1: Croquis de la Granja de Irquis perteneciente a la Parroquia Victoria del Portete.....	49
Ilustración 2. Diagrama de caja de los tratamientos empleados.	61
Ilustración 3. Distribución de los datos de cada replica en los tratamientos empleados	62



Cláusula de Derechos de Autor

Yo, José Alfredo Bernal Ávila autor de la tesis "EVALUACIÓN DE CINCO PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN POLLOS DE ENGORDE", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 11 de Junio del 2015.


José Alfredo Bernal Ávila
C.I: 0104719927



Cláusula de Derechos de Autor

Yo, Dayana Liseth González Guzmán autora de la tesis "EVALUACIÓN DE CINCO PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN POLLOS DE ENGORDE", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 11 de Junio del 2015.

Dayana Liseth González Guzmán

C.I: 1400787345



Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, José Alfredo Bernal Ávila, autor de la tesis "EVALUACIÓN DE CINCO PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN POLLOS DE ENGORDE", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 11 de Junio del 2015.



José Alfredo Bernal Ávila

C.I: 0104719927



Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, Dayana Liseth González Guzmán, autora de la “EVALUACIÓN DE CINCO PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN POLLOS DE ENGORDE”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 11 de Junio del 2015.

Dayana Liseth González Guzmán

C.I. 1400787345



AGRADECIMIENTO

En esta presente investigación agradecemos a Dios y a nuestros padres por darnos la vida. A nuestros padres por haber siempre sido el apoyo en todos los aspectos a lo largo de nuestras vidas, facilitando lograr nuestros objetivos trazados para un futuro mejor.

A la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, en especial a la escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, la cual nos brindó el espacio para crecer como estudiantes y formarnos para ser buenos profesionales, a su vez también agradecer por abrirnos las puertas y facilitarnos las instalaciones para llevar a cabo esta investigación.

A nuestro tutor de tesis al Dr. Fabián Astudillo M.V.Z., Msc. y a los siguientes docentes: Carlos Vaca M.V.Z., Msc.; Antonio Vallecillo M.V.Z., Msc, PhD.; Diego Rodriguez M.V.Z., Msc.; Carlos Santiago Torres Inga Eco., Msc., por habernos transmitido sus conocimientos, orientaciones, sugerencias para la elaboración de la tesis, y de igual manera por su motivación que ha sido fundamental para nuestra formación como investigadores.

Alfredo y Dayana



DEDICATORIA

A mis padres, en especial a mi madre que con su confianza y apoyo me ha demostrado ser un ejemplo, me ha enseñado a no desfallecer ni a rendirme ante nada; a su vez corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mi familia, por ser fuente de apoyo constante en mi vida y más aún en la duración de mi carrera profesional, que sin su ayuda hubiera sido imposible culminar mi profesión.

A mis amigos y a todos que de cualquier modo nos brindaron su ayuda para llevar a cabo con éxito la presente investigación.

ALFREDO BERNAL



DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres y hermano, por ser el pilar fundamental de mi vida, por su apoyo, comprensión, amor y ayuda en los momentos difíciles. Me han brindado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter y perseverancia para conseguir mis objetivos, a ustedes por siempre mi corazón y agradecimiento.

A mi hija, mi inspiración y motivación para luchar y lograr las metas que me he propuesto, su afecto y cariño son los detonantes de mi felicidad, gracias por enseñarme el lado dulce de la vida y que un tropezón no es caiga sino un aprendizaje.

A mis amigos y conocidos que una u otra forma me han brindado su apoyo y son parte de este logro universitario.

DAYANA GONZÁLEZ



I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Newcastle (VEN) es una enfermedad que afecta fuertemente a la industria avícola, al extremo de constituirse en la preocupación principal de las explotaciones avícolas en países en vía de desarrollo, como lo es el Ecuador (Perozo, Nava, Rivera, Vale, Arrieta, y Yaneth, 2004).

Desde su reconocimiento en 1926, esta enfermedad es considerada como endémica en muchos países. Manuel Acosta, expresa que no hay información registrada de los primeros brotes de la enfermedad en nuestro territorio, se habla de mortalidades por el mal, a nivel de aves de traspatio. (Asamblea Mundial de Delegados de la OIE, 2012 ; Acosta, sf).

Estudios recientes muestran que globalmente la enfermedad de Newcastle, está ampliamente diseminada, en el 2001 fue reportada en 63 países, en noviembre del 2007 se reportó que 151 países que reportan a la OIE, 88 presentaron brotes de la enfermedad en su forma velogénica (Angulo, s.f)

La enfermedad de Newcastle es producida por cepas virulentas de Paramixovirus tipo 1 (PMVA-1), del género Avulavirus, correspondiente a la familia Paramyxoviridae, a su vez existen diez serotipos de paramixovirus aviares, denominados PMVA-I a PMVA-10 (OIE, 2012).

La velocidad de presentación de los signos clínicos varía dependiendo del virus infectante, la especie del huésped, edad, estado inmunitario, la infección con otros organismos, condiciones ambientales, la vía de exposición y dosis (Calnek, 2000)



La serología es una herramienta fundamental y clásica en el programa de medicina preventiva, además de monitorear la ausencia o la exposición de las enfermedades avícolas, el aumento del uso de esta tecnología refleja el enorme progreso del desempeño de nuevos inmunoensayos presentados al mercado como Kits, estas nuevas metodologías se encajan en dos grupos que son los inmunoensayos tipo ELISA (inmunoabsorción ligado a enzimas) cada vez más disponibles, detectando varios patógenos y los ensayos de sonda del ADN tipo PCR (Ristow, 2006).

El método diagnóstico de ELISA permitirá cuantificar la existencia de anticuerpos específicos para determinados agentes infecciosos con alta sensibilidad, en tiempo corto, económico y comparable en el tiempo (Vasquez, 2009).

Además de las buenas prácticas de bioseguridad, el control de la enfermedad consiste en la vacunación preventiva, utilizando la combinación de vacunas atenuadas (activas), inactivas y recombinantes. Los tipos de vacuna y programas de vacunación varían dependiendo de la amenaza potencial, esto es, de la virulencia de la cepa presente, fin zootécnico de las aves y calendario de producción (Cobb, 2010; OIE, 2012).

El profesional de campo necesita decidir sobre un programa de vacunación contra la enfermedad de Newcastle, teniendo en cuenta los diferentes tipos de vacunas y las posibles combinaciones que pueden emplearse en la actualidad. La mayoría de vacunas comerciales están fabricadas a base de virus activos modificados, los cuales están diseñados para prevenir los síntomas clínicos más no su excreción vírica, y de esta manera se hace dificultoso controlar y a su vez erradicar la enfermedad, debido a



lo anterior es necesario optar nuevas pautas de vacunación realizadas en la presente investigación.

En base a lo expuesto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la eficacia de cinco planes de vacunación contra la Enfermedad de Newcastle a los 49 días de edad mediante titulación de anticuerpos (ELISA) en pollos de engorde.



II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. SISTEMA INMUNE AVIAR

El sistema inmune, son una serie de elementos de defensa altamente especializados, cuya función es proteger al hospedero (en este caso las aves) de diversos agentes microbiológicos que pueden llegar a interrumpir o perturbar las funciones del organismo, incluso llegando a causar su muerte (Jesús, 2006).

El sistema inmune aviar consta de dos mecanismos de defensa inmunológica: la inmunidad innata o natural y la inmunidad adaptativa o adquirida. La inmunidad natural incluye barreras anatómicas (piel, cilios traqueales, membranas mucosas), barreras fisiológicas (fiebre, enzimas, fluidos corporales, pH), células de respuesta inflamatoria y el sistema de complemento. Por otro lado, la inmunidad adaptativa incluye los mecanismos de respuesta celular y humoral dependiente de los órganos linfoides del sistema inmune (Paredes, 2006).

Los componentes del sistema inmune adaptativo son los órganos linfoides primarios y secundarios. En los primarios es en donde se producen y diferencian los linfocitos, que en el ave corresponden a la Bolsa de Fabricio y al Timo. Los secundarios como el Bazo, la médula ósea y estructuras linfoides como: la glándula de Harder, las tonsilas cecales, placas de Peyer y el divertículo de Meckel, son los responsables de la captación y del procesamiento del antígeno. (Robin, 2008)

La función del sistema linfoide, es la de concentrar a los antígenos invasores desde todas las partes del cuerpo, hacer que los linfocitos circulen a la sangre y tejidos, de



manera que éstos puedan encontrar a esos agentes invasores para destruirlos (Jesús, 2006).

Los linfocitos originados en la médula ósea son transportados vía sanguínea a los órganos linfoides primarios donde ocurre la maduración de linfocitos B y T en la bolsa de Fabricio y Timo respectivamente. Los linfocitos maduros abandonan los órganos linfoides primarios y migran a los órganos linfoides secundarios, que incluyen el bazo, glándula de Harder, tejido linfoide asociado a los bronquios (BALT) y tejido linfoide asociado al intestino (GALT) el cual incluye las placas de Peyer, tonsilas cecales y agregados de células intraepiteliales localizados a lo largo de tracto intestinal (Paredes, 2006; León, 2008)

El Timo es un órgano plano y lobulado que se encuentra en el cuello, en íntima asociación con el nervio vago y con la vena yugular. Es el sitio donde se desarrollan principalmente los linfocitos T. La bolsa de Fabricio es un órgano exclusivo de las aves y es el único sitio de maduración y diferenciación de las células B. Es un saco ciego ubicado en la cara dorsal de la cloaca (Burns, Fernandez, Rojo, y García, 2007).

El éxito de la respuesta inmune depende de la activación de un grupo apropiado de funciones efectoras. Las funciones efectoras pueden ser de dos tipos: humoral y celular, ambas están reguladas por los linfocitos T y las citoquinas secretados por ellos (Jesús, 2006).



Las células B son las responsables de la secreción de anticuerpos mediante su interacción con el antígeno provocando su división, diferenciación y producción de anticuerpos circulantes. (León, 2008)

La subdivisión de los linfocitos B genera 3 subpoblaciones: células de memoria, células plasmáticas que se encargan de la producción de anticuerpos y células dendríticas cubiertas con antígeno para formar los centros germinales. (León, 2008)

El Bazo es el órgano donde predominan los linfocitos, es un sitio importante de procesamiento de antígenos y producción de anticuerpos en las aves maduras. En el embrión en desarrollo, este órgano es, principalmente, donde se producen los granulocitos, para luego convertirse en un órgano de defensa que contiene múltiples cúmulos de linfocitos especializados y macrófagos importantes para el procesamiento de los antígenos (Burns, Fernandez, Rojo, y García, 2007).

Las aves tienen un buen desarrollo del sistema inmune tanto humoral como celular y normalmente tienen grandes concentraciones de anticuerpos en el suero y aún más en la yema de huevo (Murcia, 2009).

Las aves poseen tres clases principales de inmunoglobulinas: IgY, IgA e IgM.

La IgY de las aves es el anticuerpo fundamental de la defensa humoral frente a un agente infeccioso, es el equivalente funcional de la IgG de los mamíferos. Ingresan en el pollito recién nacido a través del vitelo, siendo la principal inmunoglobulina en la yema y el suero (hasta 75% de concentración en el suero). Por otra parte, la IgY está presente en la fase tardía de la infección o de la respuesta inmune humoral, además



aparece conforme avanza la respuesta inmune. Es preciso mencionar que es la inmunoglobulina determinada para las pruebas serológicas (ELISA/HI) (Paredes, 2006, y Natalia, 2008).

La IgA contiene el componente secretorio, se encuentra en secreciones tanto del tracto respiratorio como gastrointestinal, brindando protección a las mismas, su componente es muy activo y resistente a la proteólisis. Estos anticuerpos tienen muchas clases de inmunoreactividad contra bacterias, micoplasmas, virus, proteínas alimentarias y autoantígenos. Interviene en la defensa inicial contra los microorganismos, especialmente en el tracto respiratorio superior, y es posible que elimine antígenos alimentarios no destruidos por la digestión, pasa a las secreciones externas interviniendo en la defensa local, está presente en gran cantidad en la bilis y vías respiratorias (Natalia, 2008; Paredes, 2006).

La IgM es la primera inmunoglobulina en aparecer luego de un primer estímulo antigénico, se cree que interviene en la defensa contra las infecciones tempranas de origen hematógeno. Es segregada al exterior localmente y aparece unida a la defensa celular sobre todo a nivel intestinal, se encuentra en el líquido amniótico del huevo y en pollitos de un día de edad (Paredes, 2006; Natalia, 2008).

La presencia de IgD e IgE también han sido descritas pero aún no han sido demostradas (Murcia, 2009).



2. ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

2.1 Historia y epidemiología

Se considera que los primeros brotes de la enfermedad se presentaron en 1926, en Java, Indonesia y en Newcastle-upon-Tyne, Inglaterra. El nombre Newcastle lo acuñó Doyle como una medida temporal, ya que deseaba evitar un nombre descriptivo que pudiera confundirse con otras enfermedades (Calnek , 2000).

De los años de 1926 a 1940, casi todos los casos graves de la enfermedad fueron detectados cerca de los puertos marinos en el océano Índico. Una vez que se estableció en las aves, su difusión mundial se facilitó, probablemente, por el transporte refrigerado de carne que en ese entonces era común (Moreno, 1994).

La diseminación de la enfermedad se debe a varios factores como es, el movimiento de aves silvestres, exóticas, de combate, palomas de competencia, aves comerciales, movimiento de otros animales, movimiento de gente y equipo, movimiento de productos avícolas, alimento de aves contaminado al igual que el agua y las vacunas. La naturaleza de la diseminación de la enfermedad de Newcastle también afecta a la distribución, a raíz de esto se ha presentado tres panzootias de Newcastle desde que se reconoció por primera vez la enfermedad. (Calnek , 2000).

La enfermedad de Newcastle tiene distribución mundial, en Latinoamérica los brotes de la enfermedad no son ajenos a la industria avícola. Existen países que deben convivir a diario con la enfermedad como Venezuela, Colombia, Perú, Bolivia, México, Ecuador y



algunos países de Centro América, mientras otros países como Brasil, Argentina, Uruguay y Panamá se declaran libres de la misma (Perozo, 2012).

En Ecuador no hay información registrada de los primeros brotes de la enfermedad. Manuel Acosta, avicultor ecuatoriano alude que pudo ver personalmente serios brotes de la enfermedad desde la década de los 70, fecha en la cual se involucró en la crianza de pollos de engorde, a partir de entonces los brotes se han suscitado periódicamente, originándose en zonas densamente pobladas en aves de múltiples edades, orientadas a la producción de huevos y carne (Acosta, s.f).

Durante el año 2004 no se han registrado focos de Newcastle en granjas avícolas del Ecuador. La vigilancia sanitaria se ha fortalecido con la formación de la Comisión Nacional de Avicultura del Ecuador (CNA), la misma que está compuesta por la empresa privada representada por la Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE) y AGROCALIDAD, manteniéndose una muy buena coordinación (Sanidad mundial animal, 2004).

La enfermedad de Newcastle es una enfermedad altamente contagiosa, considerada como la más importante por la severidad que algunas cepas pueden causar, su presentación en la forma velogénica es de reporte obligatorio ante la OIE. En el 2001 fue reportada en 63 países o territorios. En Noviembre del 2007, anuncian que de 151 países que reportan a la OIE, 88 han tenido brotes de la enfermedad en su forma velogénica en los últimos dos años (58% del total). A pesar de los esfuerzos realizados mediante programas de control con vacunación y bioseguridad la enfermedad es muy persistente (Angulo, s.f).



Rivera (2005) indica que, solo una causa es responsable de tan amplia de difusión y son las aves migratorias, estas atraviesan toda la America del Norte y Sur (Rivera, 2005)

2.2 Etiología

La enfermedad de Newcastle es causada por los virus del serotipo paramixovirus aviar del tipo 1 (APMV-1), son miembros del género Avulavirus en la familia Paramyxoviridae (The Center for food security & public health; Institute for international cooperation in animal biologics, 2008).

Los paramixovirus aislados procedentes de especies aviares se han clasificado mediante pruebas serológicas y análisis filogenéticos en diez subtipos, denominados PMVA-1 a PMVA-10 (OIE, 2012).

Las cepas del virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) según la (OIE, 2012) se agrupan en cinco patotipos en base a los signos clínicos observados en los pollos infectados y menciona que una de las propiedades más características de las distintas cepas del VEN es su enorme variación respecto a la patogenicidad en los pollos, estas cepas son:

1. Velogénico viscerotrópico: es una forma muy patógena en la que se observan frecuentemente lesiones intestinales hemorrágicas.
2. Velogénico neurotrópico: se presenta con mortalidad elevada, habitualmente después de signos respiratorios y nerviosos.



3. Mesogénico: se presenta con signos respiratorios y signos nerviosos ocasionales pero baja mortalidad.
4. Lentogénico o respiratorio: se presenta con una infección respiratoria leve o subclínica.
5. Entérico asintomático: normalmente consiste en una infección entérica subclínica (OIE, 2012).

Las cepas se han clasificado según el tiempo que tardan en matar al embrión de pollo, en: Lentogénicas, matan en 96 horas o más; Mesogénicas, en 72 a 96 horas y Velogénicas, en 24 a 72 horas (Rojo, 2008).

Todos los virus tienen una simetría helicoidal de la nucleocápside con una cadena única en sentido negativo y lineal en su genoma de ácido ribonucleico (ARN), el cual codifica para seis proteínas (Angulo, s.f).

2.3 Proteínas virales

Se trata de un virus con un genoma no segmentado que codifica 6 proteínas estructurales: hemoaglutinina-neuramidasa (HN), proteína de fusión (F), nucleocápsido (NP), matriz (M) y fosfoproteína (P) y polimerasa (L). La proteína V que está relacionada con la inhibición de la respuesta antiviral se origina a partir del gen P mediante edición del ARN y es considerada no estructural (Villegas y Perozo, 2012).

La proteína M forma un vínculo entre las glicoproteínas en los virus envueltos y la nucleoproteína en la nucleocápside, estabiliza la estructura viral. Otras dos proteínas la HN y la Proteína F, las cuales forman proyecciones en la envoltura viral. Los Ac



formados para la proteína NH son la base para la serología en la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI). La proteína F es la encargada de mediar la fusión virus-célula y célula-célula. Estas glicoproteínas son esenciales en la infectividad viral y son los determinantes antigénicos ideales en la inducción de la inmunidad (Angulo, s.f).

La proteína F junto con la HN forman proyecciones en espiga en la superficie exterior de la envoltura viral, son neutralizantes y protectores de antígenos del VEN, explica (Shin-Kee, 2013). El desdoblamiento de la proteína F es un requisito previo a la entrada del virus y la fusión de célula a célula. Las funcionalidades del gen F se han explorado para el desarrollo de vacunas y el diagnóstico contra el VEN manifiesta (Kumar, 2014; Shin-Kee, 2013).

2.4 Replicación viral

La replicación empleada por los paramyxovirus es igual al de los virus de tira negativa en general. El paso inicial es la adherencia de dicho virus a los receptores celulares que están mediadas por la proteína HN, la fusión de la membrana viral con la membrana celular se lleva a cabo por la acción de la proteína F, luego el complejo de la nucleocápside ingresa a la célula. La replicación intracelular se da en su totalidad en el citoplasma. Es necesario para la ARN polimerasa dirigida por un ARN viral, generar transcripciones en sentido positivo, para que de esta manera pueda actuar como ARN mensajero y emplear los mecanismos de la célula para facilitar la traducción a proteínas y genomas virales. Las proteínas virales sintetizadas en una célula infectada se transportan hacia la membrana celular, que se modifica por su incorporación.



Siguiendo el alineamiento de la nucleocápside cerca de las regiones modificadas de la membrana celular, las partículas virales brotan de la superficie celular. (Calnek, 2000)

2.5 Resistencia del virus

El VEN es muy contagioso, el virus muestra resistencia medianamente alta a la temperatura. En regiones tropicales con temperaturas en torno a los 40°C y humedad relativa ambiental del 20-30%, el virus se mantiene activo mínimo 4 semanas en cadáveres, 5 semanas en agua corriente, y más de 8 semanas en heces, residuos y piensos para aves, en la carne congelada de ave se mantiene la infectividad durante años. La acción directa de los rayos ultravioletas destruye el virus rápidamente. En la zona de pH comprendida entre 3 y 11 es bastante estable el virus (Villegas & Perozo, 2012)

Los productos viricidas destruyen el VEN, si bien el elevado contenido proteico del medio en que se halla el virus retrasa la inactivación; temperaturas por debajo del punto de congelación interrumpen el proceso de inactivación. Mencionando esto, para lograr una eficaz desinfección es preciso llevar a cabo previamente una limpieza mecánica a fondo, y en invierno, aportar calor (Villegas & Perozo, 2012).

Los desinfectantes eficaces contra el virus del VEN incluyen: Clorhexidina, Hipoclorito de sodio (6%), fenólicos y los agentes oxidantes. El VEN también puede ser inactivado por calor (56°C durante 3 horas o 60°C durante 30 min), pH ácido (pH 3), éter y formol; la eficacia del formol varía con la temperatura (The Center for food security and public health; Institute for international cooperation in animal biologics, 2008).



2.6 Definición

La Asamblea Mundial de Delegados de la OIE (2012) señala, que la gran mayoría de especies aviares es susceptible a la infección por PMVA-1, tanto de virulencia alta como de virulencia baja, los signos clínicos manifestados en aves infectadas varían mucho y dependen de factores tales como: el virus, la especie hospedadora, la edad del hospedador, la infección por otros microorganismos, el estrés medioambiental y el estado inmunitario. (OIE, 2012)

La definición de la OIE para anunciar un foco de la enfermedad de Newcastle es la siguiente:

“La enfermedad de Newcastle se define como una infección de aves causada por un virus del serotipo 1 del paramixovirus aviar (PMVA-1) que cumple uno de los criterios siguientes de virulencia:

- a) El virus tiene un índice de patogenicidad intracerebral (ICPI) en polluelos de un día de 0,7 o superior, o
- b) Se han demostrado en el virus múltiples aminoácidos básicos (o directamente o por deducción) en el extremo C-terminal de la proteína F2 y Fenilalanina en el residuo 117, la cual está en el extremo N-terminal de la proteína F1. El término “múltiples aminoácidos básicos” se refiere a que existen al menos tres residuos de Arginina o Lisina entre las posiciones 113 y 116.

En esta definición, los residuos de aminoácidos se numeran desde el extremo N-terminal de la secuencia de aminoácidos deducida a partir de la secuencia de nucleótidos del gen F0 donde las posiciones 113 a116 corresponden a las posiciones – 4 a –1 a partir del punto de escisión.”



2.7 Transmisión

En la revisión de las formas de transmisión de la enfermedad, la infección se puede dar de forma directa o indirecta y esta se disemina de una ave a otra dependiendo de la disponibilidad del virus en una forma infecciosa (Calnek , 2000).

La fuente principal de contagio es el aire espirado, el cual, antes ya de hacer su aparición (período de transmisibilidad), los primeros síntomas clínicos tienen grandes cantidades de virus en aerosol. También expresa que las secreciones de la nariz, pico y los ojos son infecciosas (Villegas y Perozo, 2012).

El virus infectante puede estar presente en aerosoles y que las aves colocadas en una atmósfera con dichos aerosoles se llegan a infectar. En infecciones naturales se liberan gotitas de aerosol de diversos tamaños que contienen el virus, como un resultado de la replicación en el aparato respiratorio, polvo o heces, estas partículas llenas de virus pueden inhalarse o chocar contra las membranas mucosas que causan infección. Durante el curso de la infección la mayoría de las aves, excretan grandes cantidades de virus en las heces, la infección resulta por ingestión de las mismas. La transmisión vertical es decir el paso de virus de padres hacia la progenie vía al embrión, es controversial. El virus también puede penetrar en el cascarón después de la postura, lo que complica al evaluar si la transmisión fue vertical o transovárica. Los pollos que se infectaron pudieron proceder de huevos infectados con virus vacúnales u otros con cepas lentógenas que no necesariamente originan la muerte de los embriones (Calnek, 2000).



La transmisión mediante huevos se da en diferentes casos por ejemplo: huevos rotos, aquellos que hayan sido puestos durante la fase de viremia y aquellos huevos que contengan heces en el exterior (Calnek, 2000; Villegas y Perozo, 2012).

También contienen virus, las canales, residuos de matadero y esperma. El contagio se realiza de forma directa por contacto de un animal con otro y por vía aerogena de forma indirecta. El transporte de aves vivas infectadas desempeña un papel importante en la difusión de la enfermedad, el virus puede diseminarse en breve plazo a grandes distancias (Villegas y Perozo, 2012).

El contagio indirecto es de igual importancia en la enfermedad, (Villegas & Perozo, 2012) indica que los operarios de granjas, sus ropas y calzado, las jaulas, bebederos, comederos, implementos de galpones no debidamente desinfectados, así como también vehículos, productos de mataderos y las plumas juegan importante papel en la difusión de la enfermedad (Villegas y Perozo, 2012).

2.8 Período de incubación

El período de incubación (Calnek, 2000; CFSPH & IICAB, 2008; Moreno, 1994) coinciden que en las aves de corral varía de 2 a 15 días dependiendo de la virulencia de la cepa y la susceptibilidad de la población, y que en pollos infectados con cepas velogénicas el período de incubación de 2 a 6 días.

2.9 Patogénesis y signos clínicos

La enfermedad de Newcastle afecta principalmente a las aves, algunas especies se enferman, mientras que otras son portadoras sanas, se producen infecciones en los



humanos, pero no se han reportado en otras especies de mamíferos. Se sabe que los virus APMV-1 infectan a más de 250 especies de aves en 27 órdenes; otras especies aviares también pueden ser susceptibles (The Center for food security and public health; Institute for international cooperation in animal biologics, 2008).

Se han sido distinguidos cinco patotipos y cepas características de la enfermedad de Newcastle:

1. Virus Velogénicos vicerotrópicos (VVEN), caracterizado por la infección aguda y letal, en donde se presentan lesiones hemorrágicas en el tracto digestivo de las aves. La cepa Doyle es típica de estos virus velogénicos. De acuerdo a la mortalidad embrionaria estas provocan la muerte del embrión en menos de 60 horas.
2. Virus Velogénicos neurotrópicos (NVEN), son causantes de la enfermedad caracterizada principalmente por signos nerviosos agudos, con frecuencia alta mortalidad, seguida por desórdenes respiratorios. La cepa Beach es la típica de este patotipo.
3. Virus Mesogénicos, estos virus son los responsables de moderados signos respiratorios, cursando con mortalidad en aves jóvenes. El tipo Beaudette es el característico de esta cepa.
4. Virus Lentogénicos, estos solo presentan una leve infección en el tracto respiratorio. Las cepas Hichner (B1) y La Sota son los virus característicos de estos.



5. Virus Entéricos Asintomáticos, son los causantes de una infección intestinal con una no aparente enfermedad. Por lo menos no causan reacciones vacunales en el sistema respiratorio. Las cepas V4 Australiana y la Ulster pertenecen a esta categoría. (The Center for food security & public health; Institute for international cooperation in animal biologics, 2008)

Los síntomas clínicos varían con la patogenicidad de la cepa y las especies de aves (CFSPH & IICAB, 2008; Angulo, sf; Calnek, 2000) indican que los signos en general son: depresión, diarrea, postración, edema de la cabeza, ojos y barbillas. En casos donde se presenta el VVEN, los signos clínicos inician con apatía, depresión, respiración incrementada y muerte, en cuanto a la producción baja en el consumo de alimento y se menciona una reducción de peso entre 200 y 300g por ave. Seguida de la baja en la producción de huevo entre 7 a 10 días. Exponen que se puede observar diarrea verde en aves que no mueren al principio de la infección, y antes de morir, pueden tener temblores musculares, torticolis, parálisis de las patas y alas (CFSPH & IICAB, 2008; Angulo, sf; Calnek, 2000).

2.10 Lesiones macroscópicas

Así como los signos clínicos, las lesiones macroscópicas y los órganos afectados en aves con el VEN, también dependen de la cepa y patotipo del virus infectante. El huésped y todos los demás factores pueden influir en la gravedad de la enfermedad. En la enfermedad de Newcastle no hay lesiones patognomónicas relacionadas con cualquier tipo de enfermedad (Calnek, 2000).



Las lesiones de gran significancia normalmente se encuentran sólo en aves infectadas con cepas velogénicas. La cabeza o región periorbital pueden estar inflamadas, el tejido intersticial del cuello puede ser edematoso, en especial cerca de la entrada torácica. También se puede encontrar congestión o hemorragias en la parte caudal de la faringe y en la mucosa traqueal y a veces se producen membranas diftéricas en la orofaringe, tráquea y el esófago (CFSPH & IICAB, 2008).

Las lesiones en el sistema nervioso son pequeñas y poco evidentes en forma macroscópica aun cuando los signos nerviosos estén presentes. Las lesiones en el tracto respiratorio consisten en lesiones hemorrágicas, congestión de tráquea y aerosaculitis (Angulo, s.f).

Se pueden observar petequias y pequeñas equimosis en la mucosa del proventrículo, mientras que en las tonsilas cecales y tejidos linfáticos de la pared intestinal (incluyendo las placas de Peyer) se reconoce muy a menudo hemorragias, úlceras, edema y/o necrosis que son indicativas de la enfermedad de Newcastle. Las hemorragias del Timo y bursales también pueden estar presentes, pero pueden ser difíciles de ver en las aves de más edad. El Bazo puede estar agrandado, friable y de color rojo oscuro o moteado. La necrosis pancreática y edema pulmonar se pueden encontrar en algunas aves; los ovarios frecuentemente son edematosos o degenerativos y pueden contener hemorragias (CFSPH & IICAB, 2008).



2. 11 Histopatología

La histopatología de las infecciones por el VEN, es tan variada como los signos clínicos y las lesiones macroscópicas. A continuación se detalla los principales cambios:

Sistema nervioso: las lesiones observadas son, encefalomielitis no purulenta con degeneración neuronal, focos de células gliales, infiltración perivascular de linfocitos y proliferación de células endoteliales, menciona que por lo general las lesiones pueden observarse en cerebelo, médula, cerebro medio, tallo encefálico y médula espinal, pero rara vez en el cerebro.

Sistema vascular: revela que se encontró hiperemia, edema y hemorragias en vasos sanguíneos en varios órganos. Otros cambios que pueden apreciarse consisten en hialinización de los capilares y arteriolas, desarrollo de trombosis hialina en vasos pequeños y necrosis de las células endoteliales de los vasos.

Sistema linfoide: informa que se encontró un cambio regresivo en el sistema linfopoyético, hiperplasia de las células reticulohistiocíticas en varios órganos, lesiones necróticas en todo el bazo, vacuolización focal y destrucción de linfocitos en las áreas corticales y centros germinales del bazo y el timo, así como notable degeneración de la región medular en la bolsa.

Aparato intestinal: indica que existen lesiones hemorrágico-necróticas y que otras lesiones se relacionan con los cambios en el sistema vascular.

Aparato respiratorio: especifica que en la mucosa del aparato respiratorio superior se observa, congestión, edema e infiltración celular densa de linfocitos y macrófagos.



Aparato reproductor: explica que aquí los cambios son muy variables, el mayor daño funcional se presentaba en el útero o en la porción formadora del cascarón del oviducto. Los cambios en el órgano reproductor femenino incluyen atresia de folículo con infiltración de células inflamatorias y formación de agregados linfoides, menciona que se observan agregados similares en los oviductos (Calnek, 2000).

2. 12 Diagnósticos

2.12.1 Diagnóstico clínico

La enfermedad de Newcastle según (CFSPH & IICAB, 2008) debe ser considerada en pollos, cuando las tasas de morbilidad y mortalidad son altas y los síntomas son consistentes con esta enfermedad, a la vez indica que la muerte súbita es a veces el primer signo (CFSPH & IICAB, 2008).

El objetivo del diagnóstico es llegar a una decisión sobre las medidas de control, se debe tener en cuenta que ninguno de los síntomas clínicos o lesiones de la enfermedad puede considerarse patognomónico (Calnek, 2000).

2.12.2 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de la enfermedad de Newcastle en su forma velogénica comprende otras causas de septicemia, enteritis, afección respiratoria y/o signos neurológicos. En las aves de corral estas enfermedades incluyen al cólera aviar, influenza aviar altamente patógena, laringotraqueítis, la forma diftérica de la viruela aviar, psitacosis, micoplasmosis, bronquitis infecciosa, aspergilosis, y problemas de manejo tales como la privación de agua o alimento, y la mala ventilación. En aves



domésticas, las enfermedades a considerar incluyen la psitacosis, salmonelosis, adenovirus, y las deficiencias nutricionales, así como otras infecciones por paramixovirus (CFSPH & IICAB, 2008).

2.12.3 Diagnóstico de laboratorio

Cuando se estudia la enfermedad de Newcastle como consecuencia de la aparición de una enfermedad severa y de mortalidad elevada, es corriente iniciar el aislamiento del virus a partir de aves muertas recientemente o moribundas. Las muestras de aves muertas consisten en: hisopos oronasaes, así como tejidos de pulmón, riñones, intestino (incluyendo contenido), amígdalas cecales, bazo, encéfalo, hígado y corazón. Las muestras para aves vivas comprenden hisopos traqueales u orofaríngeos como cloacales, este último debe estar visiblemente cubierto de materia fecal (OIE, 2012).

Las muestras deben colocarse en solución salina isotónica tamponada con fosfato (PBS), pH 7,0–7,4, que contenga antibióticos, evitando el estrés por calor y deben procesarse lo antes posible (OIE, 2012; Perozo, 2012).

El VEN crece en disintos cultivos celulares incluyendo el cultivo primario de celulas de embrión de pollo, siendo el medio preferido para su aislamiento, se utilizan huevos embrionados de pollo de 9 a 11 dias de edad, se recomienda utilizar huevos de parvadas que no hayan sido hiperinmunizadas y sin historia clinica de la enfermedad (Perozo, 2012).



2.13 Serología

La serología es una herramienta fundamental y clásica en el programa de medicina preventiva y combate contra las enfermedades avícolas, ya que permite la exposición a las enfermedades. El VEN puede manejarse como un antígeno en gran variedad de pruebas serológicas, lo que permite que se utilicen las técnicas de neutralización o de enzimoimmunoanálisis (ELISA) y HI, para valorar el nivel de anticuerpos en las aves post-vacunación (OIE, 2012; Calnek, 2000).

La presencia de anticuerpos específicos en el suero de una ave aporta poca información de la cepa infectante del VEN y por tanto tiene valor diagnóstico limitado (Calnek, 2000).

El método diagnóstico serológico permitirá cuantificar la existencia de anticuerpos específicos para determinados agentes infecciosos con alta sensibilidad, en tiempo corto, económico y comparable en el tiempo (Vasquez, 2009).

En la presente investigación se utilizará la prueba de ELISA, mediante el Kit IDEXX NDV (Vineza, 2005), específica que los pocillos de las placas del Kit de ELISA están impregnados con el antígeno del patógeno causal de la enfermedad, a esto se le añade el suero problema que debería tener los anticuerpos respectivos (Vineza, 2005).

Es necesario mencionar que existen diferentes tipos de ELISA y son los siguientes: ELISA directo; ELISA indirecto; ELISA sándwich, que a su vez se divide en doble y heterólogo; y por último el ELISA competitivo. Los ELISAs tipo sándwich sirven para



detectar antígenos y los ELISAs indirectos para detectar anticuerpos, siendo este nuestro caso para la presente investigación (Cultek, 2006).

Vineza (2005) explica los datos que se pueden observar en el reporte realizado con el kit de IDEXX para la detección de anticuerpos anti-VEN y son los siguientes:

Count: es el número de muestras que se han utilizado para realizar la prueba, en este parámetro no se hallan incluidos los controles positivos y negativos.

Mean: es el promedio de títulos obtenidos al analizar la muestra.

Gmean: es el promedio geométrico de los títulos de los sueros analizados y en el que se restringen los valores máximos y mínimos no significativos de la muestra, con lo que se obtiene un resultado más cercano a la realidad.

SD: es la desviación estándar que nos expresa la medida de dispersión para un conjunto de datos, este valor es uno de los más importantes y nos da una primera idea de la forma en la que están agrupados los datos de la muestra que se está analizando.

%CV: la importancia de este coeficiente es que incluye los valores de media aritmética y desviación estándar. (Vasquez, 2009) especifica que lo deseable sería que los lotes presenten menor %CV posible, pues esto significa que hubo una respuesta uniforme del lote evaluado. Una respuesta inmune homogénea a la vacunación por lo general da un resultado de CV menor de 35-45%.

Min: es el mínimo valor encontrado en el análisis de la muestra.

Max: es el máximo valor encontrado en el análisis de la muestra.



Date: corresponde a la fecha en la que la muestra fue analizada con el kit IDEXX.

Dil: es la dilución a la que el suero ha sido sometido, generalmente es de 1:500 (Vineza, 2005).

El kit de ELISA está diseñado para medir la concentración relativa del anticuerpo frente al virus del VEN en suero de pollos. Se tapizan 96 pocillos con antígeno viral. Después de la incubación de la muestra en el pocillo tapizado, se agrega un anticuerpo específico frente al VEN, que forma un complejo con los antígenos virales. Después de eliminar por lavado el material no unido, se añade a los pocillos un conjugado que se une a los complejos del anticuerpo del pollo presente en los pocillos. El conjugado no unido se elimina por lavado, y se agrega a los pocillos un substrato enzimático. El cambio de color resultante está directamente relacionado con la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra. (IDEXX, 2012)

Los resultados finales se reflejan numéricamente mediante valores de absorbancia o densidad óptica (es la intensidad de color desarrollada entre los anticuerpos, el antígeno y los conjugados del kit de ELISA) que se obtendrán a la longitud de onda más adecuada para la coloración final alcanzada (Cultek, 2006; Vasquez, 2009).

2. 14 Prevención y control

Bajo condiciones de campo los factores más importantes para prevenir el ingreso del VEN y su diseminación son: las condiciones como se crían las aves y el nivel de bioseguridad implementado (Perozo, 2012).



Una buena bioseguridad puede ayudar a prevenir la enfermedad, expresa que no deben estar en contacto con aves de corral domésticas, salvajes o silvestres con estado de salud desconocido, los trabajadores también deben evitar el contacto con aves fuera de la granja. Las “medidas de bioseguridad” incluyen galpones protegidos de aves migratorias, suministro adecuado de alimento y de agua, reducción al mínimo de los movimientos dentro y fuera de la instalación, y la desinfección de vehículos y equipos que entran a la granja. Las plagas, de insectos y ratones también deben ser controlados. Si es posible, los empleados deben ducharse y ponerse ropa exclusiva para ese trabajo. También es aconsejable la cría todo adentro / todo afuera (un grupo etario por granja), con desinfección entre grupos (CFSPH & IICAB, 2008).

Como consecuencia de la amplia distribución de este virus, el cual ocasiona grandes pérdidas a la industria avícola en los países donde se presenta, se han utilizado para el control múltiples estrategias de lucha y se menciona las siguientes: (Cuello, Armando, & Julia, 2011)

1. No aplicación de la vacuna.
2. La vacunación de reproductoras y ponedoras solamente.
3. El uso de estrategias de vacunación, ya sea con la vacunación en anillo en caso de brote (perifocales) o la vacunación de toda la población basada en la prevención, control y erradicación de la enfermedad.

La vacunación es una herramienta fundamental y muy útil, sin embargo también nos debemos enfocar con igual importancia a las buenas prácticas de manejo y a la bioseguridad (Perozo, 2012).



2.14.1 Vacunación para la enfermedad de Newcastle

La vacunación contra la enfermedad de Newcastle tendría que lugar a una inmunidad contra la infección y replicación del virus, pero lo que sucede en realidad es que protege al ave de consecuencias más graves de la enfermedad, pero la replicación viral y la diseminación se seguirían presentando pero en grado reducido (Calnek, 2000).

La correcta vacunación es parte esencial en un programa de manejo aviar y será el éxito de cualquier operación avícola. La inmunización protege a cientos de millones de aves de muchas enfermedades contagiosas y a su vez mortales a nivel mundial. Dependiendo del antígeno de la vacuna, el sistema inmune de las aves reacciona creando una respuesta memoria de anticuerpos y células inmunes, específica que mientras más se expone el ave al mismo antígeno, mejor será su respuesta de anticuerpos, razón por la cual se realiza una revacunación en un programa común de vacunación (Cobb, 2010).

Cuando se diseña un programa de vacunación se debe tener en cuenta: el tipo de vacuna utilizada, el estado inmunitario con respecto a la enfermedad en las aves a vacunar, y así como el nivel de protección requerido en relación a cualquier posibilidad de infección con el virus natural en condiciones locales (OIE, 2012).

La capacidad del ave de responder a la estimulación antigénica es uno de los factores que limita el éxito de una vacunación, la presencia de agentes inmunosupresores ya



sean virales o de otra índole condicionan la respuesta inmune innata y adaptativa (Villegas y Perozo, 2012)

La duración de la inmunidad depende del programa de vacunación elegido, una de las consideraciones más importantes que afectan a los programas de vacunación es el nivel de inmunidad materna de los pollos jóvenes, que puede variar considerablemente entre explotaciones, lotes y animales (OIE, 2012) .

2.14.2 Tipos de vacunas

Existen tres tipos de vacunas aviares: Virus activo modificado o Atenuado, Virus Inactivado y Recombinantes (Cobb, 2010).

2.14.2.1 Vacunas de virus activo modificados o atenuados:

El objetivo de las vacunas atenuadas es establecer una infección en la parvada, de preferencia en cada ave al momento de la aplicación (Calnek, 2000).

El principal atractivo de estas vacunas es que pueden administrarse por técnicas de aplicación masiva y su bajo costo, pueden proveerse a las aves incorporándolas en el agua de bebida, administrándose como un spray (aerosol) grueso o mediante instilación conjuntival o intranasal. Por lo común se les retira el agua por algunas horas, y después se aplica la vacuna en agua fresca, calculando una dosis suficiente para cada ave. (Calnek, 2000; OIE, 2012).

Estas vacunas por lo general se venden en líquido alantoideo liofilizado en embriones infectados, son fáciles de administrar y permiten la aplicación masiva. Una de las



principales desventajas apunta que la vacuna puede provocar la enfermedad, por eso depende de las condiciones ambientales y la presencia de infecciones complicantes. Estas vacunas se pueden inactivar con facilidad por medios químicos o calor y menciona que al no controlarlas con cuidado durante la producción, pueden poseer virus contaminantes (Calnek, 2000).

En cuanto a la inmunidad, estos virus atenuados sirven para la producción de inmunidad local, que induce a la formación de IgA, que están mediadas por la inmunidad celular e interferón. La inmunidad se estimula por la infección con virus atenuados y la protección se da muy rápido después de la aplicación (Calnek, 2000; Acosta, s.f).

2.14.2.2 Vacunas de virus inactivados:

Las vacunas de virus inactivados se fabrican en líquido alantoideo infectante tratado con B-propiolactona o formalina para inactivar al virus y estas se mezclan con un adyuvante portador. Las diferentes vacunas emulsificadas en aceite, varían en su formulación de, emulsificadores, antígeno y proporciones de agua a aceite, la mayor parte en la actualidad utilizan aceite mineral (Calnek, 2000).

Con respecto a las ventajas, una de las principales se relaciona con el bajo grado de reacciones adversas en las aves vacunadas, estas promueven una inmunidad generalizada del organismo, estimula la producción de altos niveles de anticuerpos humorales y sus máximos títulos se alcanzan 4 semanas después y se sostiene durante períodos relativamente largos. La vacuna inactivada sola, no impide la



diseminación del virus, pero reduce su replicación y consecuente aumento de la presión de infección (Calnek, 2000; Acosta, s.f)

En cuanto a las desventajas, es costoso producirlas y aplicarlas ya que requieren de mano de obra para su aplicación, el control de calidad de las vacunas inactivadas es difícil y los aceites minerales pueden originar grandes problemas al vacunador, si se inyecta por accidente (Calnek, 2000).

2.14.2.3 Vacunas Recombinantes:

Con la llegada de la tecnología del ADN recombinante ha dado lugar al desarrollo de nuevas vacunas contra el VEN, una de las clases consiste en vacunas vectorizadas, estas vacunas están formadas por un virus portador adecuado que expresa una o más proteínas inmunógenas del VEN (normalmente F y/o HN), induciendo así una respuesta inmunitaria contra el VEN y el virus vector en sí (OIE, 2012).

La protección que estas vacunas ofrecen se basa en la fuerte respuesta de tipo celular que el HVT induce y que adicionalmente, al expresar la proteína F del virus de la EN, genera anticuerpos neutralizantes. Tan sólo los anticuerpos contra la proteína F evitan la transmisión del virus de célula a célula (Lechuga, 2012).

La vacuna vectorizada HVT-NDV induce una protección muy fuerte contra la enfermedad de Newcastle, tiene algunas ventajas, entre ellas tenemos: no hay excreción de virus vacunal al ambiente, lo que la hace extremadamente segura, al no exponer a las aves a virus vivos. Además, no hay ninguna interacción con otras vacunas respiratorias, tales como la bronquitis infecciosa ya que el VEN no se replica



en el tracto respiratorio de las aves. La vacuna supera completamente el problema de interferencia con los anticuerpos maternos frente a Newcastle, que otras vacunas vivas enfrentan cuando se aplican al día de vida. Esta metodología de vacunación afirma una mayor eficiencia de aplicación y control frente a los otros tipos de vacunaciones (CEVA, 2013).

Los títulos de ELISA de las aves vacunadas, según investigaciones realizadas fueron negativos en los muestreos realizados a los 14, 21 y 28 días de vida pero se observó una evidente seroconversión ya que alcanzaron niveles de positividad a partir de las 5 semanas de vida con el kit IDEXX (Lucas, 2013).



III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 Recursos materiales disponibles:

- Mesa.
- Computadora.
- Programas para la elaboración del trabajo.
- Sitios de navegación.
- Libros sobre el tema en la biblioteca de la Universidad.
- Memoria extraíble USB.
- Impresora.
- Vehículo.
- Cámara de Fotos.
- Filmadora.

1.2 Recursos materiales requeridos:

a) Materiales físicos

- Jeringas.
- Agujas.
- Algodón.
- Guantes.
- Tubos.
- Hieleras.
- Hielo.



- Manilla de Identificación.

b) Materiales de campo

- Comederos.
- Bebederos.
- Criadoras a Gas
- Cilindros de Gas.
- Mangueras y válvulas de gas.
- Bomba de Fumigar.
- Tamo.
- Viruta.
- Papel periódico.
- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Jeringas.
- Guantes de chequeo.
- Cajas porta viales.
- Separadores de madera y alambre.
- Cortinas de polietileno verdes.
- Balanza digital.
- Termómetros ambientales de máxima y de mínima.
- Gavetas de plástico para el transporte de aves.



c) Materiales biológicos

- Aves
- Sangre
- Vacunas:
 - Vacuna SOTA
 - Vacuna Clon 30
 - Vacuna Emulsificada
 - Vacuna Vectorizada
 - Vacuna GUMBORO D78

d) Materiales químicos

- Alcohol.

e) Materiales de laboratorio

- Kit de ELISA competitivos seguros de Laboratorios IDEXX
- Lavado de ELISA Skatron, desionizador catálogo N°- CPD100024
- Lector de ELISA modelo ELX800 Biotek Instruments, Inc
- Software Xckek
- Pipetas multicanales
- Pipetas automáticas de 5-10 μ l
- Pipetas automáticas de 0.5-10 μ l

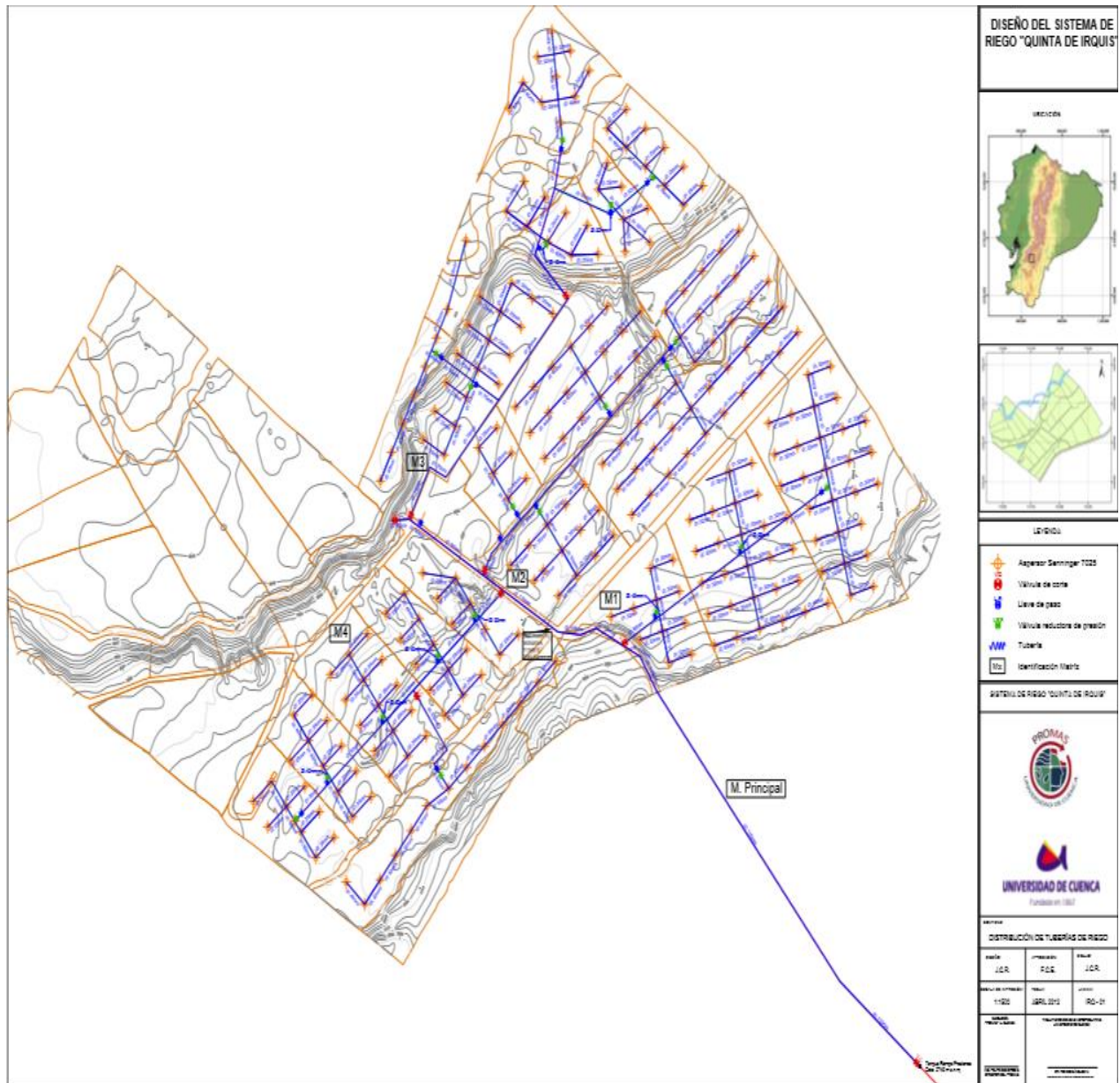
f) Materiales de oficina

- Varios

2. MÉTODOS

2.1 Área de estudio

Ilustración 1: Croquis de la Granja de Irquis perteneciente a la Parroquia Victoria del Portete



FUENTE: Secretaría de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.



Ubicación Política-Geográfica

La Granja de Irquis actualmente es patrimonio de la Universidad de Cuenca, fue donada a la Universidad en el año 2010, por la *Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo* (SENPLADES); cuenta con una extensión de 507,8 Ha de las cuales 55 Ha están destinadas a la producción de pastos, 448.62 corresponden a los bosques, pajonal y chaparro, los caminos representan 4.5 Ha y 2 Ha de construcciones. Está ubicada en el Cantón Cuenca, Parroquia Victoria del Portete, Km 20 de la Vía Salado-Léntag.

Las condiciones climáticas de la granja corresponden a las de la zona de Victoria del Portete, esta se encuentra a una altitud de 2671m.s.n.m. La precipitación promedio anual es de 1078,05 mm; y posee temperaturas que oscilan entre 7 y 12 ° C.

2.2 Metodología para la Investigación Experimental

- **Toma de datos**

Se empezó a registrar los datos de todos los tipos de vacunas y sus combinaciones mediante la toma de muestras de sangre a los 49 días de edad, con un submuestreo de 10 aves (Dueñas et al., 2012) de cada réplica, de un total de 25 aves por repetición. A las 24 horas se realizó la determinación de anticuerpos mediante la prueba de ELISA, que se llevó a cabo en el laboratorio de patología aviar LFAVET



- **Variables**

Se evaluó la titulación de anticuerpos como variable de respuesta y los protocolos de vacunación (tipos de vacunas y sus combinaciones) como factor.

Variable dependiente:

- Título de Anticuerpos

Variable independiente:

- Tipos de vacunas y sus combinaciones.

- **Los instrumentos de medida y la precisión de las medidas**

- Jeringa de 3 ml
- Prueba de ELISA



- **Especificación de los tipos de vacunas y sus combinaciones que se evaluó.**

TRATAMIENTO	DÍA DE APLICACIÓN	TIPO DE VACUNA	CEPA	VÍA DE APLICACIÓN
T1	1 día	Vectorizada		Subcutánea
T2	1 día 23 día	Vectorizada VVM ¹	La sota	Subcutánea Ocular
T3	8 día (1 ^a dosis) 23 día (2 ^a dosis)	VVM VVM	Clon 30 Clon 30	Ocular Ocular
T4	8 día (1 ^a dosis) 23 día (2 ^a dosis)	VVM VVM	Clon 30 Clon 30	Agua Agua
T5	8 día 8 día	Emulsificada VVM	La sota	Subcutánea Ocular
T6	Control Negativo	-	-	-

VVM: Virus vivo modificado



- **Cronograma de vacunación empleado en la investigación frente a las enfermedades de Newcastle y Gumboro.**

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>DÍA DE APLICACIÓN</i>	<i>TIPO DE VACUNA</i>
T1	1 día 5 día (1ra dosis) 18 día (2da dosis)	VECTORIZADA GUMBORO GUMBORO
T2	1 día 5 día (1ra dosis) 18 día (2da dosis) 23 día	VECTORIZADA GUMBORO GUMBORO VVM SOTA
T3	5 día (1ra dosis) 8 día (1ra dosis) 18 día (2da dosis) 23 día (2da dosis)	GUMBORO CLON 30 GUMBORO CLON 30
T4	5 día (1ra dosis) 8 día (1ra dosis) 18 día (2da dosis) 23 día (2da dosis)	GUMBORO CLON 30 GUMBORO CLON 30
T5	5 día (1ra dosis) 8 día 8 día 18 día (2da dosis)	GUMBORO EMULSIFICADA VVM SOTA GUMBORO
T6	5 día (1ra dosis) 18 día (2da dosis)	GUMBORO GUMBORO



- **Métodos del manejo del experimento**

Método para extraer la muestra de sangre de las aves

La técnica que se utilizó para extraer y manipular la muestra de sangre fue mediante punción de la vena braquial del ala, es la más indicada en aves de más de cuatro semanas de edad (Doug, s.f).

Método de laboratorio

Las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Patología Aviar LFAVET, donde fueron procesadas mediante la prueba de ELISA, para la detección de anticuerpos de la enfermedad de Newcastle.

- **Evaluación serológica**

La evaluación serológica se realizó usando los kits de ELISA competitivo de los Laboratorios IDEXX, el lector de ELISA modelo LX800 Biotek Instruments y se leyeron usando el Software Xchek, exclusivo de la empresa IDEXX. Los puntos que se evaluó en la investigación fue el:

- Nivel y uniformidad de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle mediante la prueba de ELISA en las muestras serológicas a los 49 días de edad de los pollos (Anexo 1).

2.3 Diseño experimental

Se utilizó un “*Diseño completamente al azar con submuestreo*”, que consiste en la asignación de los tratamientos en forma completamente aleatoria a las unidades experimentales, donde se evaluó 6 tratamientos con 4 repeticiones. Se utilizaron 100 aves por tratamiento, dando un total de 600 aves.



- **El análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de variables se utilizó el programa SPSS para Windows, versión 22.0. En los resultados se emplearon las siguientes pruebas con un nivel de significancia del 5%:

a. Descriptiva:

- Diagramas de caja
- Promedios
- Error estándar
- Mediana

b. Inferencial (Paramétrica):

- Normalidad de los datos (Test de Shapiro-Wilk)
- ANOVA
- Pruebas post-hoc: Duncan
- Homogeneidad de Varianza
- Pruebas de contraste



IV. RESULTADOS

Respuesta serológica (ELISA) en los diferentes planes de vacunación para la Enfermedad de Newcastle.

Tabla 1. Estadísticos de resumen de anticuerpos en aves de engorde a los 49 días de edad.

TRATAMIENTOS	Media (Gmean)	Mediana	Desviación típica	Mínimo	Máximo	CV (%)
VECTORIZADA	1856 a	1247	1619	148	5628	105%
VECTORIZADA + SOTA	2288 a	1989	1658	381	6818	98%
CLON 30 OCULAR	2472 a	1744	1987	321	7243	86%
CLON 30 AGUA	1809 a	1161	1624	170	6333	130%
EMULSIFICADA + SOTA	4860 b	4507	2994	166	10059	70%
CONTROL	1442 a	1132	1118	176	4593	91%
Total	2455 a	1680	2210	148	10059	102%

*ab. Diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$).



Al día 49 de edad, los niveles de anticuerpos medidos mediante la prueba de ELISA se obtuvieron los siguientes resultados, para el plan de vacunación 1 con un promedio geométrico total (Gmean) de 2108 y un CV de 105%; Plan de vacunación 2 con un Gmean de 2573 y un CV de 98%; Plan de vacunación 3 con un Gmean de 2610 y un CV de 86%; Plan de vacunación 4 con un Gmean de 2255 y un CV de 130%; Plan de vacunación 5 con un Gmean de 4992 y un CV de 70%; Control con un Gmean de 1580 y un CV de 91%. Alcanzando un Gmean promedio total de 2686 y un CV de 102%.

Análisis estadístico

Dentro de la base de datos se excluyeron cuatro valores extremos, dos máximos y dos mínimos, considerados atípicos, con el objetivo de evitar distorsionar los resultados de los análisis. También se empleó estimadores rigurosos para caracterizar los grupos de datos, tal como la utilización de la Mediana en lugar de la Media.

Al realizar la prueba de normalidad de Shapiro-wilk (Anexo 2) de todos los tratamientos, se obtuvo $p > 0,05$, lo que indica que todos los datos presentan distribución normal, por lo que se procedió a realizar el análisis de varianza ANOVA (Tabla 2).



Tabla 2. Prueba estadística paramétrica: ANOVA

	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3.881E7	5	7762757.667	4.860	.005
Intra-grupos	2.875E7	18	1597277.861		
Total	6.756E7	23			

En el ANOVA se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el análisis de varianza, por lo que se compararon las medias con la prueba de Duncan (Anexo 3), en la que se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos en estudio ($p < 0,05$), obteniendo homogeneidad entre los tratamientos 1, 2, 3, 4 y control, y diferencia en el tratamiento 5, el cual presenta mayor promedio de titulación con 4992, en tanto que el control obtuvo el menor promedio con 1580. Se ha encontrado homogeneidad de varianza entre los tratamientos con la prueba de Levene ($p > 0,05$) (Anexo 4).

Coefficientes de contrastes entre los tratamientos

Se realizó la prueba de contrastes entre tratamientos (Tabla 3) asumiendo una igualdad de varianzas (Anexo 5).

Tabla 3. *Contrastes entre tratamientos con su respectivo p-valor.*

CONTRASTE	TRATAMIENTOS	p- valor
1	<i>Control vs Tratamientos vacunados</i>	0.145
2	<i>Individuales vs Masiva</i>	0.063
3	<i>Clon 30 (agua) vs Clon 30 (ojo)</i>	0.318
4	<i>Vectorizadas vs Tratamientos restantes</i>	0.183
5	<i>Emulsificada + sota vs Tratamientos restantes</i>	0.000
6	<i>Clon 30 vs Tratamientos restantes</i>	0.201
7	<i>Vectorizada vs Vectorizada + Sota</i>	0.428

* ($p < 0.05$) indica diferencia estadística

Para el contraste 1 se comparó la titulación de anticuerpos que presenta el control frente al resto de tratamientos vacunados, siendo esta no significativa ($p > 0,05$), por lo tanto no hay diferencias significativas entre los tratamientos. Para el segundo contraste se tomó en cuenta la vía de aplicación: individual vs masiva, siendo esta no significativa ($p > 0,05$), lo que representa que no hay diferencia significativa de títulos de anticuerpos entre estas dos vías. También se comparó la titulación de anticuerpos entre la vacuna Clon 30 agua y la vacuna Clon 30 ojo,



siendo esta no significativa ($p>0,05$), lo que nos manifiesta que hay igualdad en ambos tratamientos. Se comprobó la eficacia de la vacuna vectorizada frente al resto de tratamientos, siendo esta no significativa ($p>0,05$), lo que representa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos. En cuanto a la vacuna emulsificada presenta mayor titulación de anticuerpos frente al resto de tratamientos ($p<0,05$), por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se deduce que la titulación de anticuerpos para la vacuna Emulsificada, difiere significativamente del promedio de las titulaciones del resto de tratamientos. Se comparó la vacuna Clon 30 con el resto de tratamientos, concluyendo que no hay diferencia significativa ($p>0,05$). Como último contraste tenemos la vacuna vectorizada frente a la vacuna vectorizada + La sota, siendo esta no significativa ($p>0,05$), deduciendo que no hay diferencia en el promedio de títulos de anticuerpos entre los dos tratamientos.

Diagrama de Caja

El Diagrama de Cajas (ilustración 2) nos permite apreciar claramente y en forma comparativa, las tendencias de los datos, los valores medios, las dispersiones y los valores extremos, observando tendencias diferenciales entre tratamientos. Las cajas de los tratamientos vectorizada, vectorizada+sota, clon 30 ocular, clon 30 agua, y control presentan una distribución simétrica y homogeneidad en su grupo. Y diferencia en el tratamiento emulsificada+sota, el cual presenta mayores resultados de titulación de anticuerpos.

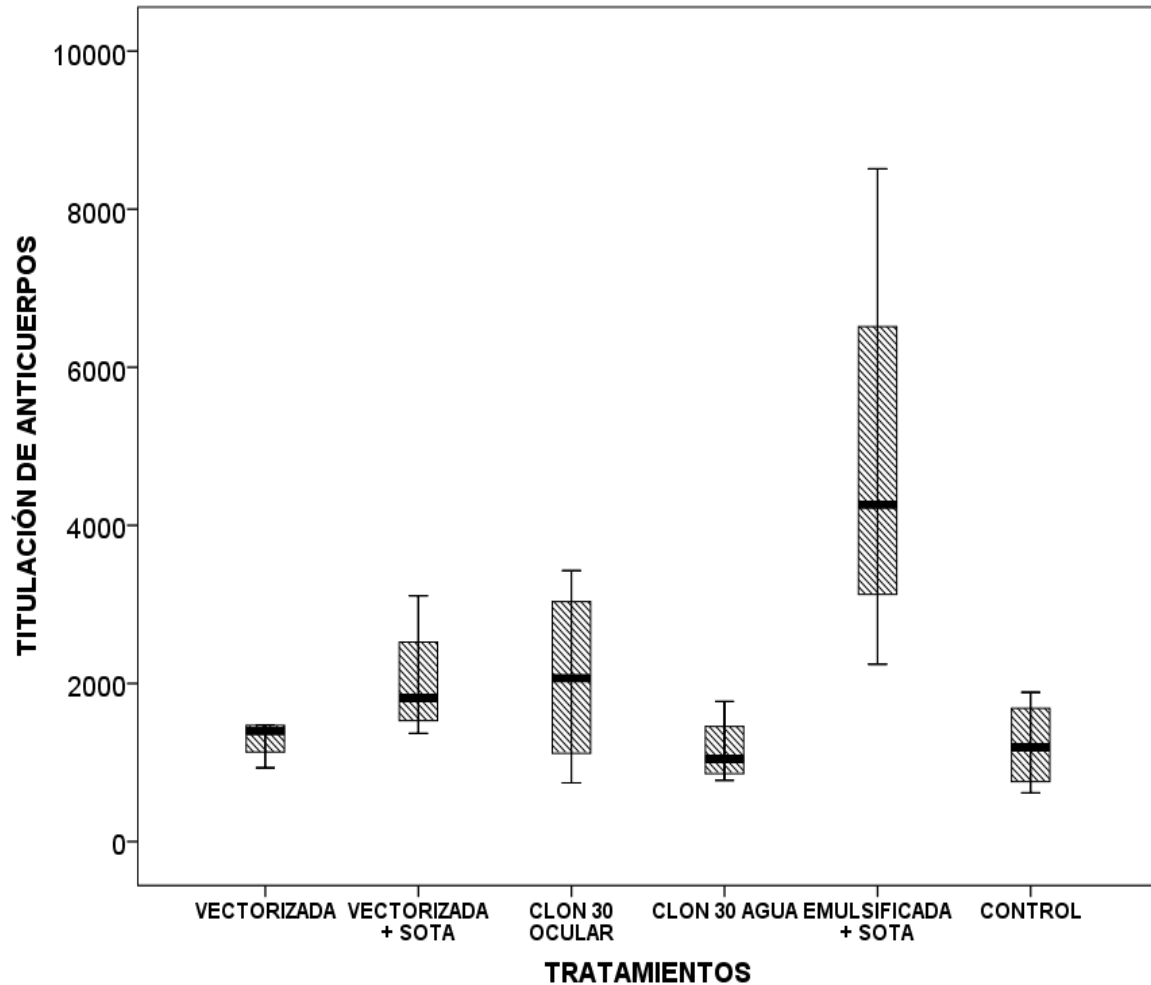
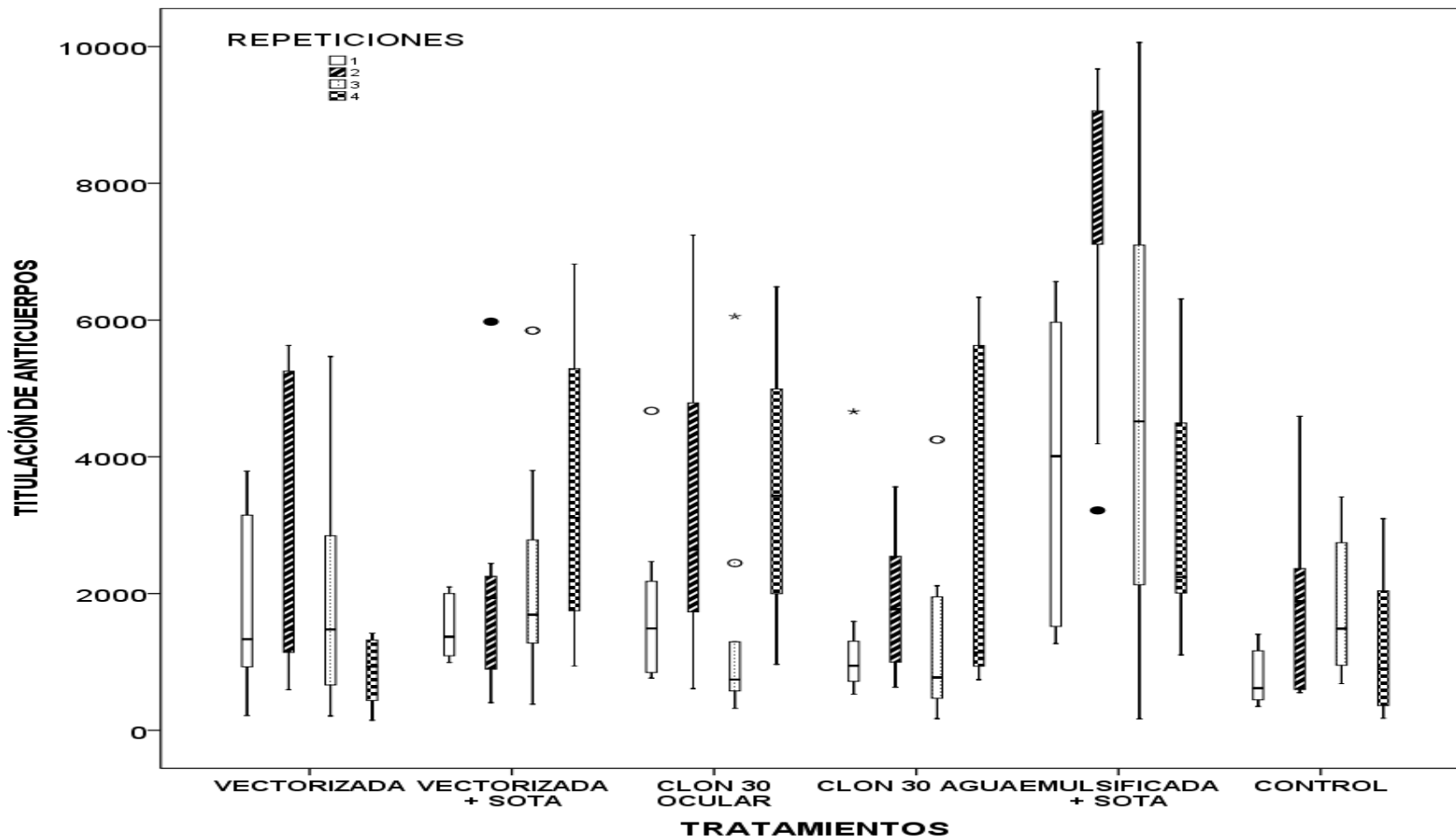


Ilustración 2. Diagrama de caja de los tratamientos empleados.

Podemos observar también en la ilustración 3, la distribución y desuniformidad de los datos de cada replica en cada uno de los tratamientos empleados, existiendo una dispersión variada de títulos y a su vez datos atípicos que se pueden apreciar en algunos de los tratamientos.

Ilustración 3. Distribución de los datos de cada replica en los tratamientos empleados



JOSÉ ALFREDO BERNAL ÁVILA
 DAYANA LISETH GONZÁLEZ GUZMÁN



V. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar cinco planes de vacunación contra la enfermedad de Newcastle a los 49 días de edad la respuesta inmune humoral mediante la titulación de anticuerpos (ELISA) en pollos de engorde.

Los resultados del estudio indican según la prueba paramétrica, ANOVA, diferencias significativas ($p < 0,05$), por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad de medias y se concluye que hay diferencia significativa de titulación de anticuerpos entre los tratamientos. En los resultados de la prueba de Duncan se observan diferencias estadísticas entre los tratamientos en estudio, obteniendo homogeneidad entre los tratamientos 1, 2, 3, 4 y control, y diferencia en el tratamiento 5 (Emulsificada + VVM La Sota), el cual presenta mayor promedio de titulación con 4991.550, en tanto que el control obtuvo el menor promedio con 1579.925. La titulación alta para este tratamiento se debe a que la vacuna Emulsificada promueve una inmunidad generalizada del organismo debido a la producción de anticuerpos IgY, que estimula la producción de altos niveles de anticuerpos humorales y sus máximos títulos se alcanzan 4 semanas después y se sostiene durante períodos relativamente largos (Acosta, s.f). La vacuna inactivada sola, no impide la diseminación del virus, pero reduce su replicación y consecuente aumento de la presión de infección. Por ello con el propósito de obtener una respuesta inmune rápida y de lograr también los más altos niveles de anticuerpos, que se sostengan el mayor tiempo posible, muchos utilizan el llamado método simultaneo de vacunación (aplicación simultanea de vacuna activa e



inactiva) (Moreno, 1994). Según Bublôt (2013) hasta ahora solo la combinación de vacunas vivas modificadas e inactivadas inducen una inmunidad óptima, sin embargo Bublôt recalca que las vacunas clásicas frente a EN tienen unas determinadas limitaciones, así, algunas de las vacunas vivas modificadas muestran una deficiencia en su seguridad, ya que pueden producir reacciones respiratorias, sobre todo las derivadas de la cepa La Sota y además requieren revacunación en campo. En cambio las vacunas inactivadas, por su parte no pueden administrarse in ovo y al tratarse de emulsiones su administración debe hacerse de forma individual y pueden causar reacciones locales en el punto de inoculación (Bublôt, 2013).

Se comprobó la eficacia de la vacuna vectorizada frente al resto de tratamientos, concluyendo que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$). Los resultados encontrados no concuerdan con lo descrito por CEVA (2013) quien manifiesta que la vacuna vectorizada HVT-NDV induce una protección muy fuerte contra la enfermedad de Newcastle, esta metodología de vacunación afirma una mayor eficiencia de aplicación y control frente a los otros tipos de vacunaciones. También menciona que tiene algunas ventajas, entre ellas tenemos: no hay excreción de virus vacunal al ambiente, lo que la hace extremadamente segura, al no exponer a las aves a virus activos. Además, no hay ninguna interacción con otras vacunas respiratorias, tales como la bronquitis infecciosa ya que el VEN no se replica en el tracto respiratorio de las aves. La vacuna supera completamente el problema de interferencia con los anticuerpos maternos frente a Newcastle, que otras



vacunas vivas enfrentan cuando se aplican al día de vida (CEVA, 2013). Esto concuerda con lo manifestado por Sara & Ceva Salud Animal (2013) quienes manifiestan que la vacuna vectorizada HVT-ND induce una proteína muy fuerte y por lo tanto reduce significativamente la eliminación viral al ambiente, es extremadamente segura, ya que no expone las aves a virus vivo de Newcastle y no hay ninguna interacción con otras vacunas respiratorias vivas, tales como la bronquitis infecciosa (Sara & Ceva Salud Animal, 2013). Mientras tanto Bublot (2013) manifiesta que las vacunas HVT-NDV han demostrado proteger contra la infección sistémica por virus velogénicos NDV, pero la protección local frente a la replicación del NDV en la tráquea es baja, lo que provoca una pobre inducción de inmunidad mucosa. Además, la aparición de la inmunidad se ve retrasada en comparación con las vacunas vivas modificadas (Bublot, 2013).

También se comparó la aplicación de la vacuna vectorizada sola frente a la vacuna vectorizada + La Sota donde el p-valor fue 0.428, deduciendo que no hay diferencia significativa en el promedio de títulos de anticuerpos entre los dos tratamientos. En una investigación reciente sobre la vacuna vectorizada contra la enfermedad de Newcastle como programa preventivo encontraron que el grupo de aves que recibieron la vacuna rHVT-NDV más virus vivo no generaron una respuesta serológica detectable por la prueba de HI y tampoco por la prueba de ELISA-IDEXX. Es conocido que la respuesta inmune la genera la proteína F y no la proteína HN, así que se esperaba ese resultado. Aunque también es importante mencionar que en el mismo estudio las dos pruebas serológicas tampoco fueron



sensibles para detectar la respuesta generada contra las vacunas con virus vivos a los 35 días de edad. Debido a la ausencia de respuesta serológica a la prueba de ELISA-IDEXX, se asume que es necesario contar con una prueba que detecte anticuerpos contra la proteína F del VEN, que puede ser un PCR-TR (Lechuga, 2012). Para Bublot (2013) la combinación de vacunas vivas modificadas junto a las vacunas vectoriales HVT-ND inducen amplia inmunidad, pero una respuesta de anticuerpos mas baja que la combinación de vacunas vivas modificadas y vacunas inactivadas (Bublot, 2013).

Se comparó la titulación de anticuerpos que presenta el Control frente al resto de tratamientos vacunados en donde no existieron diferencias significativas ($p>0,05$), a pesar que se esperaba encontrar un título bajo frente al resto de planes de vacunación, lo que concuerda con Ristow (2006) quien afirma que para el diagnóstico de enfermedades que no se vacunan, esperamos títulos bajos (menos de 1000) o cero indicando status negativo, pero en el caso de las aves que estén con esta determinada patología, tendremos la presencia de títulos más altos y aún pueden exhibir CV% alto, superior al 51% (Ristow L, 2006). Lo que se explica por una posible excreción del virus vacunal de los otros tratamientos, lo que favoreció la exposición de las aves no vacunadas del experimento, ya que la investigación se desarrolló en un solo galpón sin una barrera de aislamiento entre tratamientos, afirmando lo manifestado por Cuello, Armando, & Julia (2011) que en la enfermedad de Newcastle la vacuna tiene un papel fundamental para su control y aunque se producen altos títulos de anticuerpos en las aves inmunizadas, la



vacuna solo protege a las aves de las más serias consecuencias de la enfermedad pero no de la infección y excreción de virus que puede ocurrir a un bajo nivel. También recalca que en poblaciones de aves no vacunadas la demostración de anticuerpos indica que ha sucedido la infección lo que unido al cuadro clínico observado es suficiente para emitir el diagnóstico (Cuello, Armando, & Julia, 2011). Por otro lado, pudo haber la presencia de cepas lentogénicas que pudieron estimular el sistema inmune de todos los animales del experimento, incluidos los no vacunados, lo que concuerda con lo manifestado por Angulo (s.f) que el virus lentogénico de EN presenta una leve infección en el tracto respiratorio, la cepa La Sota que empleamos es característico de este patotipo (Angulo, s.f).

Se comparó la vía de aplicación de la vacuna siendo estas individual y masiva, en donde $p > 0,05$ indica que no fue significativo el contraste. A pesar de que las dos vías de aplicación no presentan diferencias estadísticas significativas, es importante resaltar que no hubo una distribución normal y por ende una mayor heterogeneidad de sus valores en cuanto a la aplicación de la vacuna en forma masiva, ya que se encontraron títulos muy bajos de 105 y títulos muy altos de 15.693. Según (Mollideno, s.f.) la administración de la vacuna en el agua de bebida es un método muy apropiado para la mayoría de las vacunas a virus vivo, ya que de acuerdo a su naturaleza, tienen un periodo de vida limitado que debe ser tomado en consideración durante su administración (Mollideno, s.f.). Una de las limitantes de este método es que se debe estar seguro que todas las aves de una parvada consuman la vacuna en el periodo de tiempo establecido. Garcia,



Fernandez, & Rojo (2012) manifiestan que se cuenta con equipos para la aplicación de vacunas tanto individual como masiva, para que los procesos sean más productivos y precisos en las plantas de incubación o en el campo, esto implica que se debe capacitar, supervisar y ayudar al personal para que dichos procesos se cumplan eficientemente. También señala que los métodos de vacunación deben ser monitoreados y evaluados, desde el mismo momento de la aplicación, hasta en las aves mediante el uso de diversas pruebas de laboratorio como las pruebas de ELISA, HI, histopatología, así como también la prueba de PCR, la RTPCR y la secuencia de nucleótidos o de aminoácidos (Garcia, Fernandez, & Rojo, 2012).

De igual forma se comprobó si al utilizar la misma cepa vacunal, en este caso la Clon 30 hubo diferencia de título de anticuerpos al aplicarse por vía ocular y vía masiva, de acuerdo al coeficiente de contraste manifiesta que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$). En si la cepa vacunal Clon 30 no interfiere en la titulación, pero si su vía de aplicación como se mencionó anteriormente. Según Intervet (s.f) la vacuna clon 30 es una cepa lentogénico altamente efectiva protegiendo a los pollos tanto con niveles altos y bajos de anticuerpos maternos, además causa un mínimo de reacción vacunal. Aun cuando se aplica al día de edad, esta vacuna combina la eficacia de la cepa La Sota y la seguridad de la cepa Hitchner B1 (Intervet, s.f).



VI. CONCLUSIONES

Del presente estudio “Evaluación de 5 Planes de vacunación contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorde”, a los 49 días de edad mediante titulación de anticuerpos, podemos concluir que:

1. Los cinco planes de vacunación empleados en la investigación indujeron ligera diferencia con respecto a la titulación de anticuerpos frente a la enfermedad de Newcastle.
2. Los títulos generados por el plan de vacunación correspondiente al Tratamiento 5 “Emulsificada + La Sota” son mayores, debido a la sumatoria de la estimulación antigénica de la oleosa y la vacuna viva aplicada, además la vacuna Emulsificada promueve una inmunidad generalizada del organismo debido a la producción de anticuerpos IgY.
3. El control presentó títulos de anticuerpos igual a los tratamientos debido a la excreción viral vacunal o a la posible presencia de cepas lentogénicas que contaminó al grupo control debido a la mezcla aleatoria de los animales de los diferentes planes de vacunación.
4. La aplicación de la vacuna individual y masiva no presentó diferencias significativas en relación a los títulos de anticuerpos, pero es importante resaltar que la aplicación de la vacuna en forma masiva no obtuvo una distribución normal y por ende una mayor heterogeneidad de sus valores, ya que se encontraron títulos muy bajos así como títulos muy altos.



VII. RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos y las conclusiones generadas, permiten emitir las siguientes recomendaciones:

1. Se recomienda la utilización del plan de vacunación correspondiente al T5 (Emulsificada + Sota) en zonas de alta incidencia para el VEN debido a su mayor título de anticuerpos.
2. Realizar un desafío de virus de campo, y de esta manera verificar si la vacuna da protección a las aves, con la finalidad de mostrar factibilidad para su uso comercial.
3. Analizar con otra prueba de laboratorio las muestras sanguíneas de las aves aplicadas con la vacuna vectorizada, ya que ELISA no es la prueba específica, dado que en las vacunas vectorizadas la proteína F es la que genera anticuerpos neutralizantes, y el kit de ELISA no la reconoce, a pesar de estudios que se han realizado, indican que a partir de la quinta semana se observa una evidente seroconversión, alcanzando niveles de positividad. Para tener una mayor seguridad se recomienda elegir otra prueba serológica entre la cual podemos mencionar la prueba DIVA (Differentiate Infected from Vaccine Animals).
4. El comportamiento inmunogénico de un sistema de vacunación masivo, como el agua de bebida, de acuerdo a lo investigado tiene un comportamiento similar que al aplicarlo individualmente, pues entre estos dos tratamientos no se evidencia diferencia estadística más que numérica,



sin embargo sería importante conocer el efecto de estos tratamientos a diferentes niveles de desafío

5. Efectuar los estudios de cada tratamiento en diferentes galpones, utilizando un diseño de bloques al azar, ya que al tener vacunas atenuadas o inactivadas tenemos excreción viral vacunal al ambiente, la cual puede interferir en los resultados del resto de tratamientos como es el caso de las vectorizadas que no tienen excreción viral vacunal, incluido también el control.
6. La investigación realizada debe ponerse a disposición de la CONAVE y AGROCALIDAD como fuente de información para un conocimiento más profundo de los planes de vacunación convencionales y mejorar coberturas vacúnales respecto a la enfermedad de Newcastle.



VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta. (s.f). Enfermedad de Newcastle: Gran Problema de la Avicultura Ecuatoriana. En M. Acosta, *Enfermedad de Newcastle: Gran Problema de la Avicultura Ecuatoriana*. (pág. 1).
2. Angulo, E. (s.f). *Enfermedad de Newcastle Aviar*. Recuperado el 20 de abril de 2015, de Virbac al día:
<http://www.webveterinaria.com/virbac/news16/aves.pdf>
3. Asamblea Mundial de Delegados de la OIE. (2012). Enfermedad de Newcastle. *Manual Terrestre de la OIE*, 630-645.
4. Bublot, M. (2013). Mecanismo de accion de vacunas vectoriales HVT+IBD, vacunas vectoriales HVT-ND y de inmunocomplejos frente a IBD. *Merial R&D*, 16-17.
5. Calnek, B. (2000). *Enfermedad de Newcastle y otras infecciones por Paramyxoviridae*. México,D.F: El Manual Moderno.
6. Calnek, B. (2000). Enfermedad de Newcastle y otras por paramyxoviridae. En B. Calnek, *Enfermedades de las Aves* (págs. 555-577). Mexico: El manual moderno.
7. CEVA. (2013). Un nuevo concepto en la protección contra Newcastle. *CEVA Mundo Avícola*, 1-2.
8. Cobb. (2010). *Guia de procedimientos para vacunación*. Recuperado el 20 de abril de 2015, de
http://www.academia.edu/8910903/Gu%C3%ADa_de_Procedimientos_para_Vacunaci%C3%B3n
9. Cuello, S. V. (Junio de 2011). *REDVET*. Obtenido de Actualizacion sobre la Enfermedad de Newcastle:
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060611/061111.pdf>
10. Cuello, S., Armando, V., & Julia, N. (2011). Actualización sobre la enfermedad de Newcastle. *REDVET*, 1-30.
11. Cultek. (2006). *Soluciones ELISA*. Madrid: Cultek.
12. Doug, G. (s.f). *MANERA APROPIADA DE EXTRAER Y DE MANIPULAR LAS MUESTRAS DE*. Trujilo: HY-LINE INTERNATIONAL .



13. Dueñas, D. e. (20 de Septiembre de 2012). *Engormix*. Obtenido de Evaluacion de una vacuna vectorizada contra la enfermedad de Newcastle como parte de una programa de prevencion: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/evaluacion-vacuna-vectorizada-contrat4268/165-p0.htm>
14. Garcia, H., Fernandez, R., & Rojo, F. (2012). Evaluacion de la eficacia de los procedimientos de vacunacion en las operaciones avicolas. *El Sitio Avicola*, 2.
15. IDEXX. (2012). *kit para la deteccion de anticuerpos frente al virus de la Enfermedad de Newcastle*. Westbrook: IDEXX laboratories.
16. Intervet. (s.f). Contra la Enfermedad de Newcastle. *Intervet*, 1-3. Obtenido de: http://www.msd-salud-animal.mx/binaries/Bolet_n_T_cnico_Cepa_Clone__30_tcm92-66501.pdf
17. Jesús, L. (2006). Sistema inmune del pollo. *avicultura.mx*, 1-3.
18. Kumar, C. K. (2014). Species based synonymous codon usage in fusion proteine gene of newcastle disease virus. *PLOS one*.
19. Lechuga et al. (20 de 09 de 2012). *Evaluacion de una Vacuna Vectorizada contra la Enfermedad de Newcastle como parte de un programa de Prevencion*. Obtenido de <http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/evaluacion-vacuna-vectorizada-contrat4268/165-p0.htm>
20. Lechuga, M. (12 de Marzo de 2012). Nuevos enfoques en la prevención de la enfermedad de Newcastle. *Engormix Avicultura*, 1-3.
21. León, N. (2008). *Evaluación de los niveles de protección de una vacuna intermedia contra la enfermedad de Gumboro en pollos de postura*. Lima: Tesis para optar el título profesional de Medico Veterinario.
22. Lucas, S. (Junio de 2013). Monitoreo de la vacuna vectorizada VECTORMUNE ND mediante métodos serologicos CEVA. (CEVA, Ed.) *Ceva salud animal*, 1-3.
23. Mollideno, S. N. (s.f.). *Comparacion de Titulos de Anticuerpos de Newcastle en Pollos Parrilleros vacunados por Via Agua vs Aspersión*. Obtenido de http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/MOLLINEDO%20Narda%20-20101028-174041.pdf



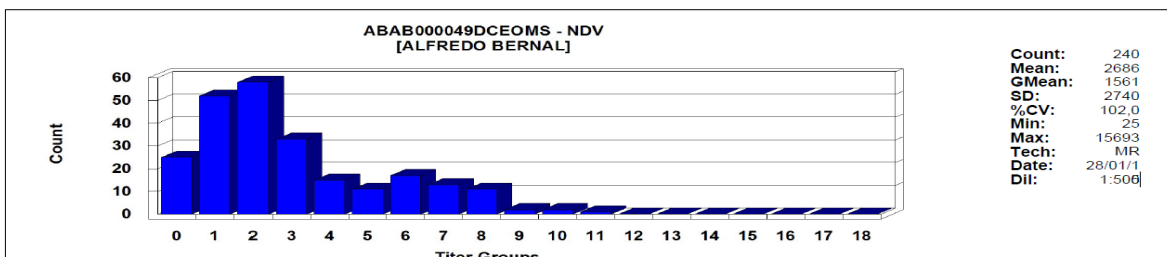
24. Moreno, R. (1994). La enfermedad de Newcastle y algunos avances recientes de diagnostico. *Ciencia Veterinaria*, 49-72.
25. Murcia, H. (2009). Importance of avian inmunoglobulins and their immunoassay applications. *Teoria y praxis investigativa*, 19-26.
26. Paredes, W. (2006). *Evaluación de la protección conferida por un programa de vacunación contra la enfermedad de Gumboro en pollos de carne*. Lima: Tesis para optar el Título de Médico Veterinario FMV-UNSM .
27. Perozo, F. (2012). Actualidades sobre la enfermedad de Newcastle. *Engormix Avicultura*, 1-14.
28. Perozo, F., Nava, J., Rivera, S., Vale, O., Arrieta, D., & Yaneth, M. (2004). Evaluacion de dos planes de vacunación contra la enfermedad de newcastle en pollos de engorde de la linea ross criados bajo condiciones de campo en el estado de Zulia, Venezuela. *Redalyc*, 387-393.
29. Ristow, L. (2006). Consideraciones para la interpretación de resultados serológicos a través de la metodología ELISA para avicultura. *Macroclinic*, 1-4.
30. Rivera, O. (2005). *Gran Manual de Avicultura*. Bogotá: Temas de orientación agropecuaria.
31. Robin, O. (2008). Sistema inmune aviar. *Asociación Española de ciencia Avícola*, 1-7.
32. Rojo, E. (2008). *Enfermedades de las aves*. México, D.F.: Trillas.
33. Sanidad mundial animal. (2004). *OIE*. Recuperado el 09 de abril de 2015, de ftp://ftp.oie.int/SAM/2004/ECU_E.pdf
34. Sara, L., & Ceva Salud Animal. (2013). Prevencion de la enfermedad de Newcastle. *Cadena Avicola*, 2.
35. Shin-Kee, H. e. (2013). Newcastle disease virus fusion protein is the major contributor to protective inmunity of genotype-matched vaccine. *PLOS one*, 1-10.
36. The Center for food security & public healt; Institute for international cooperation in animal biologics. (2008). Enfermedad de Newcastle. 1-8.



37. Vasquez, C. (2009). *Algunas consideraciones para la interpretación serologica en ELISA*. Perú. Obtenido de <http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/algunas-consideraciones-interpretacion-serologica-t2558/165-p0.htm>
38. Villegas, P., & Perozo, F. (2012). *Experiencias prácticas en el control de la enfermedad de Newcastle*. Atenas.
39. Vineza, C. (7 de Julio de 2005). Interpretación y uso de exámenes de ELISA en avicultura. *REDVET*, 1-7.
40. Virbac. (s.f). Enfermedad de Newcastle aviar. *Virbac al día*, 1-8.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Resultados de la evaluación serológica a los 49 días de edad



NDV - 28/01/15 - MR - 1:500					Comment for ABAB000049DCEOMS: POLLOS, EDAD: 49 DIAS.
	O.D.	Titer	Group	Result	
Neg	0,054				
Neg	0,051				
Pos	0,398				
Pos	0,376				
1	0,261	1368	2	Pos!	
2	0,226	1128	2	Pos!	
3	0,221	1090	2	Pos!	
4	0,219	1076	2	Pos!	
5	0,348	2000	3	Pos!	
6	0,345	1978	2	Pos!	
7	0,207	992	1	Pos!	
8	0,348	2000	3	Pos!	
9	0,360	2097	3	Pos!	
10	0,081	154	0	Neg	
11	0,121	405	1	Pos!	
12	0,327	1645	2	Pos!	
13	0,292	1592	2	Pos!	
14	0,858	5976	6	Pos!	
15	0,368	2149	3	Pos!	
16	0,194	895	1	Pos!	
17	0,124	425	1	Pos!	
18	0,352	2030	3	Pos!	
19	0,381	2253	3	Pos!	
20	0,407	2441	3	Pos!	
21	0,610	4009	5	Pos!	
22	0,279	1505	2	Pos!	
23	0,893	6260	7	Pos!	
24	0,247	1268	2	Pos!	
25	0,929	6562	7	Pos!	
26	0,857	5968	6	Pos!	
27	0,083	50	0	Neg	
28	0,375	2201	3	Pos!	
29	0,282	1519	2	Pos!	
30	0,808	5580	6	Pos!	
31	0,508	3216	4	Pos!	
32	0,634	4190	5	Pos!	
33	1,232	9059	8	Pos!	
34	0,997	7108	7	Pos!	
35	1,206	8841	8	Pos!	
36	1,191	8715	8	Pos!	
37	1,141	8306	8	Pos!	
38	1,305	9673	8	Pos!	
39	1,141	8306	8	Pos!	
40	1,266	9353	8	Pos!	
41	0,082	166	0	Neg	
42	1,759	13552	10	Pos!	
43	0,676	4519	5	Pos!	
44	0,079	148	0	Neg	
45	0,249	1289	2	Pos!	



Laboratorio LAFAVET Cia. Ltda
 Av. Shyris 46-86 y 8 de Diciembre Esquina.
 Telf: 022482480 Fax: 022268027
 28/01/2016



Analyze Case Report

Case: ABAB000048DCEOMS - 28/01/2016 (POLLOS)
 DEBMA11

Comment for ABAB000048DCEOMS: POLLOS, EDAD: 48 DIAS.

NDV - 28/01/16 - MR - 1:500				
	O.D.	Titer	Group	Result
46	0,477	2970	3	Post!
47	1,350	10059	9	Post!
48	1,190	8715	8	Post!
49	0,796	5478	6	Post!
50	1,455	10951	9	Post!
51	0,430	2615	3	Post!
52	0,673	4486	5	Post!
53	0,750	5108	6	Post!
54	0,349	2008	3	Post!
55	0,378	2224	3	Post!
56	0,223	1104	2	Post!
57	0,899	6309	7	Post!
58	0,319	1786	2	Post!
59	0,383	2261	3	Post!
60	0,377	2216	3	Post!
61	0,493	3093	4	Post!
62	0,500	3147	4	Post!
63	0,161	668	1	Post!
64	0,091	215	0	Neg
65	0,582	3790	4	Post!
66	0,572	3712	4	Post!
67	0,233	1175	2	Post!
68	0,270	1440	2	Post!
69	0,198	929	1	Post!
70	0,240	1225	2	Post!
71	0,149	594	1	Post!
72	0,284	1534	2	Post!
73	0,157	648	1	Post!
74	0,244	1253	2	Post!
75	0,332	1882	2	Post!
76	0,815	5628	6	Post!
77	0,797	5486	6	Post!
78	0,265	1396	2	Post!
79	0,767	5253	6	Post!
80	0,229	1140	2	Post!
81	0,140	528	1	Post!
82	0,693	4662	5	Post!
83	0,228	1140	2	Post!
84	0,252	1303	2	Post!
85	0,292	1592	2	Post!
86	0,153	614	1	Post!
87	0,238	1203	2	Post!
88	0,168	716	1	Post!
89	0,169	723	1	Post!
90	0,173	750	1	Post!
91	0,389	2306	3	Post!
92	0,324	1823	2	Post!
Neg	0,060			
Neg	0,051			
Pos	0,396			
Pos	0,388			
93	0,213	997	1	Post!
94	0,474	2904	3	Post!
95	0,427	2544	3	Post!
96	0,561	3561	4	Post!
97	0,260	1325	2	Post!
98	0,184	798	1	Post!
99	0,315	1721	2	Post!
100	0,158	630	1	Post!
101	0,207	962	1	Post!
102	0,131	446	1	Post!
103	0,236	1163	2	Post!
104	0,116	349	0	Neg
105	0,256	1303	2	Post!
106	0,156	617	1	Post!
107	0,138	490	1	Post!

JOSÉ ALFREDO BERNAL ÁVILA
 DAYANA LISETH GONZÁLEZ GUZMÁN



Laboratorios LAFAVEI CIA. LTDA
 Av. 8th y 46-86 y 8 de Diciembre Esquina.
 Telf: 022462480 Fax: 022268027
 28/01/2016



Analyze Case Report

Case: ~~XXXXXXXXXXXX~~ - ~~XXXXXXXXXXXX~~ (PLF RELU)
 BCDMA11

Comment for ABAB00048DCEOMS: POLLOS, EDAD: 48 DIAS.

	O.D.	Titer	Group	Result
108	0,118	362	0	Neg
109	0,069	67	0	Neg
110	0,270	1404	2	Post
111	0,266	1375	2	Post
112	0,320	1755	2	Post
113	0,178	764	1	Post
114	0,377	2179	3	Post
115	0,704	4672	5	Post
116	0,197	885	1	Post
117	0,191	846	1	Post
118	0,416	2469	3	Post
119	0,189	832	1	Post
120	0,299	1604	2	Post
121	0,086	170	0	Neg
122	0,075	105	0	Neg
123	0,369	2114	3	Post
124	0,079	128	0	Neg
125	0,650	4250	5	Post
126	0,171	716	1	Post
127	0,136	484	1	Post
128	0,189	832	1	Post
129	0,324	1791	2	Post
130	0,132	453	1	Post
131	0,718	4789	5	Post
132	1,025	7243	7	Post
133	0,816	5558	6	Post
134	0,173	723	1	Post
135	0,702	4656	5	Post
136	0,334	1858	2	Post
137	0,316	1733	2	Post
138	0,155	610	1	Post
139	0,440	2640	3	Post
140	0,109	304	0	Neg
141	1,022	7218	7	Post
142	0,458	2784	3	Post
143	0,308	1669	2	Post
144	0,400	2351	3	Post
145	0,591	3800	4	Post
146	0,252	1277	2	Post
147	0,184	798	1	Post
148	0,311	1691	2	Post
149	0,852	5846	6	Post
150	0,121	381	0	Neg
151	0,374	2159	3	Post
152	0,147	550	1	Post
153	0,149	570	1	Post
154	0,403	2366	3	Post
155	0,154	597	1	Post
156	0,337	1887	2	Post
157	0,594	3813	4	Post
158	0,820	5598	6	Post
159	0,693	4593	5	Post
160	0,294	1567	2	Post
161	0,074	99	0	Neg
162	0,523	3278	4	Post
163	0,381	2209	3	Post
164	0,811	5518	6	Post
165	0,335	1872	2	Post
166	0,228	1100	2	Post
167	0,542	3414	4	Post
168	0,209	976	1	Post
169	0,167	682	1	Post
170	0,202	927	1	Post
171	0,352	1988	2	Post
172	0,369	2040	3	Post
173	0,101	260	0	Neg



Laboratorios LAFAVET Cia. Ltda
 Av. 8hyric 46-86 y 8 de Diciembre Esquina.
 Tel: 022482480 Fax: 022268027
 28/01/2016



Analyze Case Report

Case: ~~XXXXXXXXXXXX~~ - 28/01/2016 (JALFREDA)

Comment for ABAB000048DCE0M8: POLLOS, EDAD: 48 DIAS.

NDV - 28/01/16 - MR - 1:500

	O.D.	Titer	Group	Result
174	0,258	1310	2	Post
175	0,088	176	0	Neg
176	0,499	3095	4	Post
177	0,365	2092	3	Post
178	0,131	446	1	Post
179	0,118	362	0	Neg
180	0,138	490	1	Post
181	0,196	878	1	Post
182	0,150	576	1	Post
183	0,106	285	0	Neg
184	0,175	743	1	Post
Neg	0,061			
Neg	0,067			
Pos	0,395			
Pos	0,375			
185	0,150	545	1	Post
186	0,847	6054	7	Post
187	0,254	1294	2	Post
188	0,167	664	1	Post
189	0,405	2446	3	Post
190	0,117	321	0	Neg
191	0,777	5467	6	Post
192	0,354	2050	3	Post
193	0,100	211	0	Neg
194	0,215	1006	2	Post
195	0,160	614	1	Post
196	0,340	1944	2	Post
197	0,174	714	1	Post
198	0,555	3642	4	Post
199	0,080	87	0	Neg
200	0,069	25	0	Neg
201	1,940	15693	11	Post
202	0,220	1043	2	Post
203	0,742	5175	6	Post
204	0,239	1182	2	Post
205	1,208	9154	8	Post
206	0,178	741	1	Post
207	0,850	6081	7	Post
208	0,191	835	1	Post
209	0,227	1095	2	Post
210	0,880	6333	7	Post
211	0,268	1399	2	Post
212	0,180	755	1	Post
213	0,090	148	0	Neg
214	0,271	1420	2	Post
215	0,167	664	1	Post
216	0,229	1109	2	Post
217	0,247	1241	2	Post
218	0,100	211	0	Neg
219	1,191	9006	8	Post
220	1,120	8390	8	Post
221	0,370	2174	3	Post
222	1,657	13133	10	Post
223	0,534	3471	4	Post
224	0,443	2746	3	Post
225	0,746	5210	6	Post
226	0,765	5368	6	Post
227	0,258	1322	2	Post
228	0,071	36	0	Neg
229	0,937	6818	7	Post
230	0,206	941	1	Post
231	0,640	4332	5	Post
232	0,209	964	1	Post
233	0,799	5652	6	Post
234	0,898	6486	7	Post
235	0,555	3642	4	Post

JOSÉ ALFREDO BERNAL ÁVILA
 DAYANA LISETH GONZÁLEZ GUZMÁN



Laboratorios LAFAVET Cia. Ltda
Av. 8hyric 46-96 y 8 de Diciembre Esquina.
Telf: 022462480 Fax: 022268027
28/01/2016



Analyze Case Report

Case: NDV - 28/01/16 - MR - 1:500

Comment for ABAB000048DCEOMS: POLLOS, EDAD: 48 DIAS.

	O.D.	Titer	Group	Result
236	1,018	7510	7	Pos!
237	0,502	3213	4	Pos!
238	0,995	7312	7	Pos!
239	0,260	1339	2	Pos!
240	0,432	2658	3	Pos!



Anexo 2. Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk empleada en los tratamientos.

TRATAMIENTOS	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	GI	Sig.
VECTORIZADA	.803	4	.108
VECTORIZADA + SOTA	.888	4	.372
CLON 30 OCULAR	.972	4	.855
CLON 30 AGUA	.905	4	.454
EMULSIFICADA + SOTA	.918	4	.527
CONTROL	.959	4	.773

* $p < 0.05$ indica diferencias estadísticas

Anexo 3. Prueba comparaciones múltiples post hoc: Duncan

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Duncan CONTROL a	4	1157.50	
VECTORIZADA a	4	1222.50	
CLON 30 AGUA a	4	1301.25	
CLON 30 OCULAR a	4	2026.50	
VECTORIZADA + SOTA a	4	2075.25	
EMULSIFICADA + SOTA b	4		4820.50
Sig.		.367	1.000

*ab. Diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan.



Anexo 4. Prueba de Homogeneidad de Varianzas

ESTADÍSTICO DE LEVENE	gl1	gl2	Sig.
3.035	5	18	.037



Anexo 5. Coeficiente de Contrastes entre tratamientos, asumiendo una igualdad de varianzas.

		Contraste	Valor del contraste	Error típico	GI	T	Bootstrap Sig. (bilateral)
TITULACIÓN DE ANTICUERPOS	Asumiendo igualdad de varianzas	1	5268.50	3461.154	1.522	18	.145
		2	5593.50	2826.020	1.979	18	.063
		3	917.75	893.666	1.027	18	.318
		4	4796.00	3461.154	1.386	18	.183
		5	-16319.50	3461.154	-4.715	18	.000
		6	2905.25	2189.026	1.327	18	.201
		7	-725.25	893.666	-.812	18	.428
	No asumiendo igualdad de varianzas	1	5268.50	2087.864	2.523	7.706	.037
		2	5593.50	1739.782	3.215	7.249	.014
		3	917.75	634.853	1.446	3.788	.226
		4	4796.00	1668.721	2.874	6.870	.024
		5	-16319.50	6664.937	-2.449	3.089	.089
		6	2905.25	1898.692	1.530	7.567	.167
		7	-725.25	400.019	-1.813	3.667	.151

JOSÉ ALFREDO BERNAL ÁVILA
 DAYANA LISETH GONZÁLEZ GUZMÁN

Anexo 6. Llegada de los pollos al primer día de edad.



Anexo 7. Tipos de vacunas empleadas en la investigación.



Anexo 8. Toma de muestras por punción alar a los 49 días.



Anexo 9. Evaluación serológica mediante la prueba ELISA.

