

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"ESTUDIO COMPARATIVO DE LA PROTECCION CONFERIDA POR UNA VACUNA EMULSIONADA VIRUS INACTIVADO CEPA LA SOTA Y UNA VACUNA INACTIVADA CEPA KANSAS-MANHATTAN EN POLLOS DE ENGORDA".

TESIS PRESENTADA POR:

SATURNINO NAVA ARECHIGA.

ASESOR:

M.V.Z. FABIAN UVIÑA LUNA.

GUADALAJARA JAL. NOVIEMBRE 1989.

TESIS/UCBA

INDICE.

CONTENIDO	PAGINA
I) INTRODUCCION	
A.- ANTECEDENTES.....	1
B.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
C.- OBJETIVO.....	6
D.- HIPOTESIS.....	7
E.- JUSTIFICACION.....	8
II) MATERIAL Y METODOS.....	9
III) RESULTADOS.....	11
IV) DISCUSION.....	17
V) CONCLUSIONES.....	20
VI) SUMARIO.....	21
VII) BIBLIOGRAFIA.....	23

I N T R O D U C C I O N

A.- ANTECEDENTES:

La enfermedad del Newcastle (ENC) es un problema latente en todo lugar donde la avicultura esté presente. Desde su aparición en México ha sido una de las enfermedades que más pérdidas económicas a provocado.(27). Por no ser una enfermedad de reporte obligatorio en México, no existen estadísticas confiables para conocer la magnitud del problema, sin embargo su presencia es reportada en nuestra región especialmente en la zona de Tepatitlán.(2, 18). Aunque es notoria una menor incidencia con respecto a años pasados. Esta disminución se debe a la implantación de mejores medidas higiénico-sanitarias y por que se dispone de mejores vacunas para su prevención; sin embargo estamos lejos del control de la misma. Cuando se presenta ocasiona elevadas mortalidades, disminución en la ganancia de peso y aumento en el número de aves improductivas que son seleccionadas en las granjas y decomisadas en los rastros.(18,25).

Aunque el control que se lleva a cabo en países desarrollados para erradicar los patotipos más peligrosos de ENC es muy efectivo ya que consiste en el sacrificio de aves afectadas como de aves potencialmente peligrosas, en nuestro país este control no es posible debido a la situación económica que atraviesa ya que ésta medida implica el sostenimiento de técnicos e instalaciones así como el pago de indemnizaciones a los dueños de las aves sacrificadas -(2). Debido a ello la inmunización constituye un factor importante en nuestro país para el control.

Hay dos tipos de vacuna utilizados para prevenir la ENC: vacunas virus vivo y vacunas virus muerto o inactivado (8,13,15,23,26.)

Las vacunas virus vivo son fabricadas principalmente con cepas lentogénicas ejemplos de éstas cepas son La Sota y B₁ que son las únicas cepas usadas en nuestro país para vacunas virus vivo. Tienen la gran ventaja de ser de aplicación masiva y poder aplicarse por distintas vías; ocular, agua de bebida, etc. (8,13,23). Sin embargo la protección conferida es poco duradera por lo que se tiene que revacunar constantemente y/o reforzar con vacuna virus inactivado emulsionada en aceite (8). Con la vacuna virus vivo la reacción post-vacunal es severa cuando existe Mycoplasma en la parvada que se aplica este tipo de vacunación.(13).

Las vacunas inactivadas que en su mayoría están emulsionadas en aceite (26) son aquellas cuyo contenido viral ha sido inactivado por sustancias como la B propiolactona o el formol. Estas vacunas no provocan una reacción post-vacunal severa, aplicandose por vía subcutánea se puede obtener un título mayor que la vacunación con virus vivo. (inmunidad humoral) (2,26). Aunque en otros países se utilizan diversas cepas vacunales contra la ENC (1) en México sólo se utiliza la cepa La Sota en la producción de vacuna inactivada. (13). Al aplicarse este tipo de vacunación a un intervalo de tiempo adecuado posterior a la aplicación con vacuna virus vivo eleva el título de anticuerpos protegiendo más adecuadamente al ave. (13).

Para evaluar los anticuerpos (Ac's) humorales producidos en las aves por la vacunación de Newcastle se utiliza la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (HI). (26).

Existen 2 métodos para la detección de Ac's por medio de HI: El método Beta y el método alfa. El método Beta es virus constante en suero diluido y el método alfa suero —

constante en virus diluido. El método Beta es el más utilizado por la facilidad que presenta en la interpretación y análisis de resultados, además de permitir trabajar con elevados títulos de Ac's (24).

Los resultados de los títulos de Ac's HI se dan en tres formas:

- 1.- En logaritmo 2 (Log. 2)
- 2.- En diluciones dobles seriadas 1/2
- 3.- En diluciones dobles seriadas 1/5.

La forma más usual es en base Log. 2.

La vacuna inactivada emulsionada cepa La Sota puede desarrollar un título de 1 a 1024 (1 a 10 log. 2) previa vacunación virus vivo. (21)

B.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La ENC es un problema latente en áreas donde la avicultura, en cualquiera de sus manifestaciones, está presente.

Actualmente la cepa más utilizada en la producción de vacunas virus inactivado es La Sota. Esta cepa tanto en vacunas virus vivo como inactivado a demostrado producir un buen título de anticuerpos y una buena protección, sin embargo también se han observado casos donde la protección contra virus de campo no a sido satisfactoria. (2,3,4,10,11)

Otra cepa vacunal poco utilizada ha sido la cepa Kansas Manhattan virus inactivado. Los resultados obtenidos indican que está vacuna puede ser de gran utilidad para el control de la ENC. Poca información se tiene acerca de esta vacuna, solo los estudios de desafío realizados por Bernalles (2) y lo mencionado por Illescas (9). Sabemos que esta vacuna fue desarrollada por un Laboratorio Estadounidense y los datos técnicos que se conocen fueron dados por Illescas (9).

Los datos técnicos de la vacuna son los siguientes: (9)
Vacuna en suspensión oleosa virus muerto.
Paramixovirus multiforme cepa K-M, tipo velogenico.
Titulación de anticuerpos en pollo.

DIAS	HI
7	320
14	1280
21	2560.

Titulación de la vacuna.

DIEP 50 $1 \times 10^{9.2}$ (dosis infectante embrión pollo)

Los títulos de anticuerpos que se producen por la vacunación simultanea virus vivo e inactivado con cepa La Sota llegan a alcanzar un título de 1 a 10 log.² y luego se conservan en 1 a 6 log.² (21).

Un buen título producido por la vacuna emulsionada debe sobrepasar el de 1 a 5 log.² (24). Así mismo debe proteger un mínimo del 90 % de los animales vacunados ante un desafío de cepas patógenas (2).

C) OBJETIVO:

COMPARAR LA INMUNIDAD PRODUCIDA EN POLLOS DE ENGORDA POR LA VACUNA VIRUS INACTIVADO EMULSIONADA CEPA KANSAS-MANHATTAN Y LA VACUNA VIRUS INACTIVADO EMULSIONADA CEPA LA SOTA.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- = Conocer los niveles de anticuerpos HI de la vacuna cepa K-M.
- = Comparar los conocidos de la vacuna cepa la sota.
- = Saber si existe correlación entre títulos de anticuerpos y protección al desafío de la vacuna cepa K-M.
- = Saber si existe correlación entre los títulos de anticuerpos y protección al desafío de la vacuna cepa la sota.

D) HIPOTESIS:

LA VACUNA EMULSIONADA INACTIVADA CEPA KANSAS-MANHATTAN DEBERA ESTIMULAR UN MAYOR TITULO DE ANTICUERPOS MEDIDOS POR HI, ASI COMO UNA MAYOR PROTECCION AL DESAFIO CON CEPAS PATOGENAS DE NEWCASTLE QUE LA VACUNA EMULSIONADA CEPA LA SOTA.

E) JUSTIFICACION:

Se esta muy lejos del control de la ENG, lo cual exige trabajos, como el presente, que contribuyan con datos que puedan ayudar a un mejor manejo de éste problema.

Con la vacuna inactivada emulsionada cepa K-M se han obtenido buenos pero no determinantes resultados, la carencia de información impulsa a buscar más resultados. En el presente estudio se realiza una comparación entre la cepa La Sota y K-M en cuanto al título de anticuerpos y su protección al desafío para conocer si alguna cepa vacunal tiene alguna ventaja sobre la otra o si ambas tienen similar capacidad inmunológica.

De obtenerse mejores resultados con la cepa K-M, el presente trabajo nos permitirá tener una alternativa diferente que pueda ayudar en los casos donde la cepa La Sota no proporcione la protección adecuada. En caso que los resultados sean similares se tendría una opción diferente de la cepa La Sota. De obtenerse resultados menores con la cepa K-M se podría seguir considerando a la cepa La Sota como una mejor opción.

Los datos técnicos que se nos han proporcionado de la vacuna cepa K-M, los títulos de anticuerpos HI mencionados son muy altos, por lo cual es importante corroborar ese dato, ya que de ser así, esta vacuna sobrepasaría los datos estimados convencionalmente.

Aunque no es sinónimo de buena protección un alto título de anticuerpos, un título mayor de 5 Log^2 es aceptado como óptimo para proteger al desafío, sin embargo no conocemos si ésto sea válido para la vacuna cepa K-M. Por ello el presente estudio permitirá saber si hay protección con cierto título, como ha sido mencionado para La Sota.

M A T E R I A L Y M E T O D O

Material:

- 100 pollos raza hubard recién nacidos
- 30 dosis de vacuna emulsionada cepa "Kansas-Manhattan"
- 30 dosis de vacuna emulsionada cepa "La Sota"
- 30 dosis de agua destilada (.5ml. por dosis)
- 1 jeringa y 10 agujas
- 90 dosis de virus infectante de Newcastle cepa "Chimalhuacán"
- : 1 cuarto 4 por 5 mts. dividido en 3 secciones comederos y bebederos suficientes
- material necesario de laboratorio y material biológico para pruebas de inhibición de la hemoaglutinación método beta según lo descrito por Hitchner (7)
- 50 frascos esterilizados de vidrio tipo diluyente con capacidad de 30 ml.
- 40 jeringas esterilizadas de 5 ml. con aguja esterilizada (20 por 32).

Método:

El presente experimento se realizó con 100 pollos raza hubard de 1 día de edad procedentes de una misma parvada de gallinas y de una incubadora comercial. Se eligieron 10 pollos al azar para obtener la primer muestra de suero, los 90 pollos restantes se dividieron mediante muestreo al azar en 3 lotes de 30 pollos cada uno denominados "A", "B" y "C" (siendo éste último el lote testigo).

A los 8 días de edad se obtuvo la primer muestra de sangre de los 10 pollitos elegidos previamente con el fin de mantener fija la cantidad de pollitos en los lotes. Se

les sacrificó mediante la técnica de decapitación según lo descrito (20) y la sangre se recolectó en frascos de vidrio tipo diluyente esterilizados y con tapón de hule que se colocaban horizontalmente para formar el suero. Se llevaron luego al laboratorio donde se realizó la prueba HI método beta.

A los 10 días de edad se procedió con la vacunación de los lotes por vía subcutánea de la manera siguiente: lote A vacuna cepa K-M inactivada de tipo emulsionada, lote B vacuna cepa la sota inactivada de tipo emulsionada de un laboratorio comercial, lote C agua destilada.

Las dosis aplicadas a los 3 lotes fueron de .5ml. en jeringa automática con su aguja respectiva (20x13).

A los 29 días de edad del pollo se procedió a tomar la segunda muestra usándose una jeringa de 5 ml. y aguja de 20 por 32; en algunos pollos se hizo punción cardíaca y a otros se les extrajo del ala según las técnicas descritas (20). Se pasaron con cuidado a frascos de vidrio esterilizados tipo diluyente con tapón de hule y se tuvieron los mismos manejos descritos en la primer toma. Cabe mencionar que éste sangrado se realizó en los 2 lotes, A y B a 10 aves de c/u. Dos días después (31 días de edad del pollo) se realizó el desafío con una sola cepa patógena de newcastle, la chimalhuacán, con 200,000 unidades que se aplicaron vía conjuntiva a los 90 pollos.

A los 21 días posteriores al desafío (52 días de edad del pollo) se tomó una tercera muestra de sangre sólo a pollos del lote A y del B que se recolectó de la misma manera que la segunda muestra, también a 10 pollos de cada lote excepto el C. En ese mismo momento se escogieron al azar 5 pollos de dichos lotes que se sacrificaron a fin de observar lesiones.

R E S U L T A D O S

Los títulos de anticuerpos HI obtenidos en los pollos de 8 días de edad pueden observarse en el cuadro 1. Los anticuerpos maternos presentes en el suero casi han desaparecido.

En el cuadro 2 se indican los resultados obtenidos — 19 días después de la vacunación en los dos lotes de estudiados. Los títulos de anticuerpos HI son buenos, notándose una pequeña diferencia entre el lote A y B, siendo el primero ligeramente más alto.

En el cuadro 3 se indican los resultados obtenidos 42 días post-vacunación en los lotes A y B. Se observa un mayor título de anticuerpos humorales contra Newcastle en el lote A (vacuna K-M) comparativamente el lote B (cepa La Sota) tiene un menor título que el obtenido a los 19 días post-vacunación.

En el cuadro 4 se anotan los resultados obtenidos al desafío con la cepa Chimalhuacan en los dos lotes estudiados y el lote testigo. La protección obtenida fue de un 100 por ciento en los lotes vacunados y una mortalidad del 100 por ciento en el lote testigo.

En la grafica 1 se observa el comportamiento de los lotes A y B en cuanto a su nivel de anticuerpos humorales HI, siendo mejor la respuesta del lote A que la del B en cuanto a títulos de anticuerpos se refiere.

Las necropsias realizadas en los pollos de los lotes A y B no mostrarán lesiones características de la ENC.

Se realizó un análisis de varianza seguido de la — prueba de Tukey según lo descrito (16) y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$).

CUADRO 1.

TITULO DE ANTICUERPOS VS. ENC DETECTADOS
POR MEDIO DE LA PRUEBA DE INHIBICION DE -
LA HEMOAGLUTINACION (HI) EN LO POLLOS DE
8 DIAS DE EDAD.

No. DE POLLOS	TITULO DE ANTICUERPOS	(+)	X
1.	0		
2	0		
3	0		
4	0		
5	0		
6	0		
7	0		
8	0		
9	0		
10	10		

1.2 (++)

(+)

Este título esta dado en dilución doble comensando de 1 a 5, utilizando el método BETA.

(++)

Media geométrica según método descrito (19).

CUADRO 2

TITULOS DE ANTICUERPOS VS. ENC. DETECTADOS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE HI EN EL LOTE A (INMUNISADO CON LA VACUNA INACTIVADA EMULSIONADA CEPA K-M.) Y EN EL LOTE B (INMUNISADO CON LA VACUNA INACTIVADA EMULSIONADA CEPA LA SOTA). 19 DIAS POST-VACUNACION.

LOTE	TITULO INDIVIDUAL DE HI (+)	\bar{X}
A	320, 320, 320, 320, 320, 320, 640, 640, 640, 640.	416.8 ⁽⁺⁺⁾
B	160, 320, 320, 320, 320, 320, 640, 640, 640, 640.	389 ⁽⁺⁺⁾

(+)

Este título está dado en dilución doble comensando de 1 a 5, utilizando el método BETA.

(++)

Media geométrica según método descrito. (19).

RESIS/OUORA

CUADRO 3.

TITULOS DE ANTICUERPOS VS. ENC. DETECTADOS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE HI EN EL LOTE A Y EL LOTE B. 42 DIAS POST-VACUNACION.

LOTE	(+) TITULO INDIVIDUAL DE HI	- X
A	640,640,640,640,640,640,640, 640,1280,1280.	(++) 724
B	40,80,80,80,80,80,160,160, 160,160.	(++) 97.7

(+)

Este título esta dado en dilución doble comensando de 1 a 5, utilizando el método BETA.

(++)

Media geométrica según método descrito (19).

CUADRO 4.

RESULTADOS AL DESAFIO DEL LOTE A, B Y C
21 DIAS POST - VACUNACION.

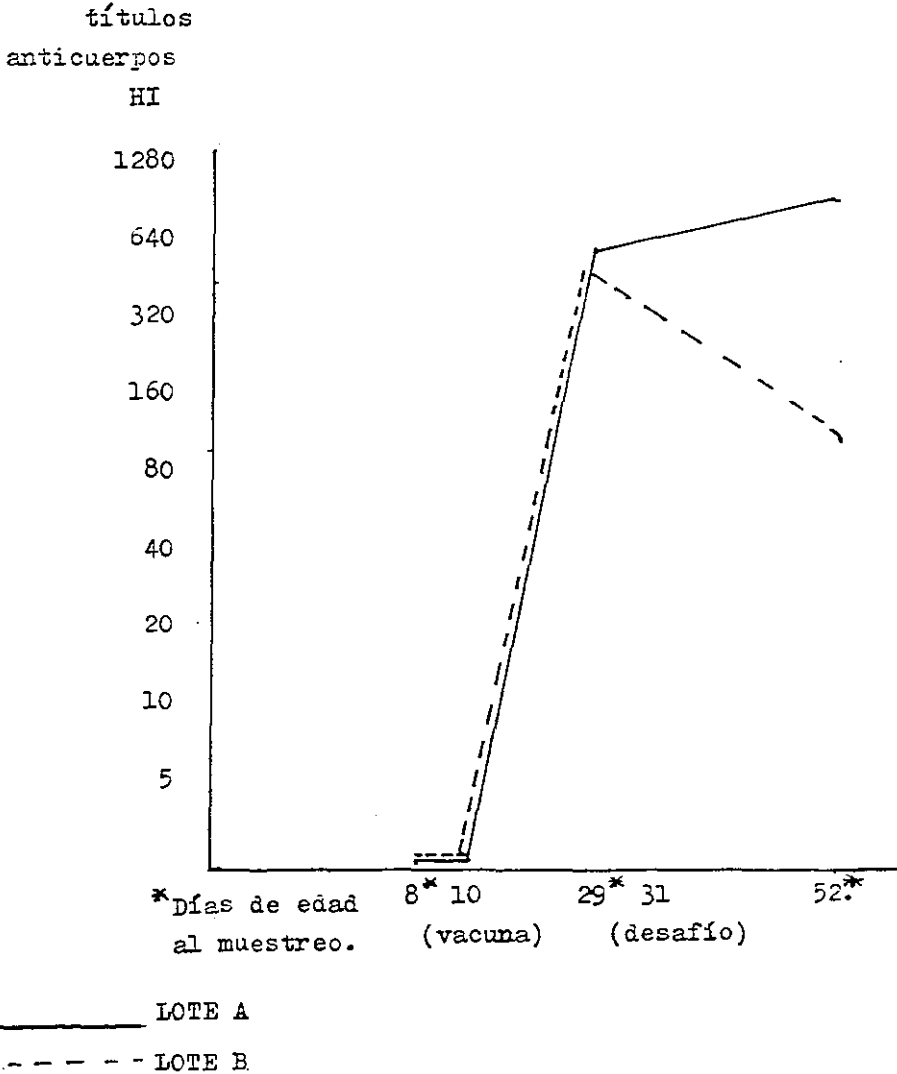
LOTE	$\frac{\text{No. de aves protegidas.}}{\text{No. de aves desafiadas.}}$ (+)	% PROTECCION
A	30/30	100 %
B	30/30	100 %
C	30/0	0 %

(+)

200,000 DLEP 50 % POR POLLO VIA OCULAR CEPA CHIMALHUACAN.

GRAFICA 1.

Comparación de los títulos de anticuerpos HI del lote A y el lote B. (Nótese el ascenso en título en el lote A en la última medición.)



DISCUSION

Las aves del lote utilizado en el presente trabajo, respondieron activamente a la vacunación a los 10 días de edad. Los títulos de anticuerpos maternos a los 8 días fueron de casi 0 y sólo en un pollo se presentó un título de 1 a 10 en la prueba de HI, esto concuerda con lo mencionado por Sarfati (24) en que el nivel de anticuerpos humorales - medidos por las pruebas de HI, son lo suficientemente bajos, alrededor de los 9 días por lo que no hay interferencia con la vacunación al aplicarla a los 10 días de edad.

Los títulos de anticuerpos alcanzados por los pollos vacunados con cepa inactivada emulsionada cepa La Sota y -- cepa K-M a los 19 días de edad y 42 días post-vacunación fueron superiores a los títulos de 1 a 40 HI que son considerados como protectivos al desafío de cepas patógenas (3, 12,24).

En el presente estudio se encontró una gran diferencia entre los títulos de anticuerpos HI provocados por la inmunización con vacuna emulsionada inactivada cepa La Sota y la vacuna emulsionada inactivada cepa Kansas-Manhattan en las pruebas de HI efectuadas 19 días y 42 días post-vacunación. En la primera los títulos guardan poca diferencia, - pero en la segunda y posterior al desafío los títulos encontrados tienen una gran diferencia siendo el lote B, vacunado con cepa La Sota, el título más bajo y con una tendencia a la baja. Comparativamente el lote A, vacunado con cepa -- K-M, los títulos son más altos que el lote B y con respecto a la primera prueba serológica efectuada a los 19 días. Esta elevación en títulos podría ser consecuencia del desafío como lo han apuntado varios investigadores (7,8), sin embargo sólo se da un aumento en el lote A y en el lote B los títulos tienden a bajar lo que podría considerarse normal debido al catabolismo de los anticuerpos (24), de existir un -- aumento debido a la respuesta de la infección, los títulos

que se deberían encontrar deberían ser más altos en los dos lotes alcanzando títulos de 1 a 2560 en su mayoría (8). Es importante subrayar que los títulos de anticuerpos son altos en el lote A sin haber existido un estímulo de refuerzo como vendría a ser la vacunación con virus vivo lo que da más realce a éste resultado, aunque se encuentra dentro del parámetro señalado por el Dr. Raya (24) como resultado de una vacunación simultánea virus vivo, virus inactivado.

Los resultados de los títulos encontrados en pollos vacunados están dentro de los que se han mencionado para ésta vacuna (3,12,21).

Este estudio confirma lo asentado por Bernalles (2) que indica que no fué necesaria la vacunación virus vivo para conferir protección al desafío de cepas altamente patógenas, en éste caso sólo la Chimalhuacán, en pollos vacunados con la cepa K-M. Esto también fué válido para los pollos del lote B, vacunados con cepa La Sota, confirmando que existe buena protección con la vacuna emulsionada de ésta cepa, lo que confirma estudios anteriores que han demostrado buena protección con la sola vacunación de la cepa La Sota en emulsión e inactivada (3,10,14).

Las dos vacunas inactivadas emulsionadas utilizadas en el presente estudio cumplen satisfactoriamente lo exigido por la Asociación Nacional de especialistas en ciencias avícolas, citado por Bernalles (2), de que la vacunación contra la Enfermedad del Newcastle proteja mínimo a un 90 % de las aves contra un desafío de alguna cepa patógena del virus de la enfermedad del Newcastle.

Aunque el lote inmunizado con la vacuna cepa Kansas Manhattan inactivada emulsionada, no alcanzó los títulos dados a esta vacuna en la información técnica (2,9), que son de 1 a 1280 a los 14 días y 1 a 2560 a los 21 días. Aunque al parecer los títulos de anticuerpos que aparecen en la información técnica están dados en un sistema no usado general-

mente y donde se multiplican los títulos de Inhibición de la hemoaglutinación alcanzados por las unidades hemoaglutinantes (4 unidades en este caso) de ser el caso los títulos serían similares ya que serían para los 14 días 1 a 320 y 1 a 640 a los 21 días. Los títulos no comparados fueron los dados a 1 semana que serían aproximadamente 1 a 80.

En el presente estudio se utilizó la cepa Chimalhuacán como cepa de desafío, a diferencia del trabajo anterior en que se usaron 3 cepas patógenas de Newcastle (2), sin embargo a diferencia del anterior se introdujo el virus directamente vía ocular a las aves (cepa Chimalhuacán 200 000 unidades). La mortalidad del 100 % de los pollos del lote testigo confirman la patogenicidad de la cepa empleada en el desafío.

CONCLUSIONES.

En base a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- Las vacunas virus inactivado emulsionadas cepas La Sota y Kansas-Manhattan confieren un buen nivel de protección -- contra el virus de la Enfermedad del Newcastle cepa Chihuahuacán.
- Los títulos de anticuerpos HI obtenidos en los pollos vacunados con la cepa Kansas-Manhattan fueron ligeramente superiores a los 19 días post-vacunación, que los observados en el lote vacunado con la cepa La Sota. A los 42 días -- post-vacunación los títulos alcansados en el lote vacunado con la cepa Kansas Manhattan fueron muy superiores a -- los encontrados en los pollos vacunados con cepa La Sota.
- Los títulos de anticuerpos HI obtenidos en la segunda toma (42 días post-vacunación) subieron en el lote de pollos vacunados con la cepa Kansas-Manhattan con respecto a la primera muestra post-vacunación (19 días posterior a la - vacunación) no siendo así para las aves inmunizadas con - cepa La Sota que tuvieron un decremento a los 42 días en comparación a la muestra tomada a los 19 días post-vacunación.
- Ambas vacunas superaron el mínimo de protección al desafío de una cepa patógena de Newcastle que es de un 90 % de sobrevivientes.
- Las dos vacunas tuvieron un título mayor al considerado -- como protector (1 a 40) en las pruebas de HI realizadas en el suero de los animales estudiados.
- Existió una correlación entre el título de anticuerpos HI y la protección al desafío en las aves vacunadas con cepa La Sota y cepa Kansas-Manhattan.

S U M A R I O

Se efectuó un estudio con 100 pollos raza hubard para comparar los títulos de anticuerpos humorales de inhibición de la hemoaglutinación contra la ENC producidos por la vacuna virus inactivado cepa K-M y la sota, así como su resistencia al desafío con una cepa patógena del virus de la misma enfermedad.

De 100 pollos, 10 fueron sacrificados a los 8 días de edad para obtener suero y hacer la primer medición del título de Ac's. Los 90 pollos restantes se dividieron en 3 lotes con 30 pollos cada uno denominándose con las letras A, B y C respectivamente. El lote A fué vacunado con la vacuna emulsionada inactivada cepa K-M (.5ml.x pollo) y al lote B se le aplicó la vacuna cepa la sota emulsionada inactivada (.5ml.x pollo). Al lote C se le aplicaron .5ml. de agua destilada por pollo.

A los 19 días postvacunación se tomó una segunda muestra de sangre a 10 pollos del lote A y a 10 del B. Dos días después se desafiaron los lotes A, B y C con virus de ENC cepa Chimalhuacán. Veintiún días después del desafío se tomó una tercer muestra a los lotes A y B y también se sacrificaron 5 pollos de c/u de dichos lotes a fin de observar posibles lesiones. Una vez que ésto se hizo se dió por terminado el experimento.

El primer muestreo reveló un bajo título de Ac's maternos (casi 0).

El segundo muestreo (19 días postvacunación) denota un promedio mayor en el título de Ac's del lote A en relación al lote B.

El tercer muestreo (42 días postvacunación) mostró un descenso en el título de Ac's del lote B y un aumento en el lote A en comparación con el segundo muestreo.

La respuesta al desafío (21 días postvacunación) en los 3 lotes fué del 100% de protección en los lotes A y B (0 mortalidad) y en el lote C 0% protección (100% mortalidad).

Ninguno de los pollos sacrificados presentó lesiones de ENC.

Se realizó un análisis de varianza seguido de la prueba de Tukey y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$).

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Barnes H.J. et. al. Avian disease manual. The American Association of Avian Pathologists. Texas A & M. University. U.S.A. 1983.
- 2.- Bernaldes Casillas Hugo. Comportamiento de la vacuna virus muerto emulsionada de Newcastle cepa K-M en pollos de engorda desafiados con cepas patógenas de Newcastle. Tesis Profesional U. de G. 1988.
- 3.- Cardona R. Helia. et. al. Desarrollo y evaluación de una vacuna inactivada en adyuvante oleoso contra la enfermedad del Newcastle. Revista de medicina Veterinaria y Zootecnia. Vol. 39. No. 1 y 2. Bogotá, Colombia. 1986. pp. 5 -13
- 4.- Decanini Lucio. et. al. Protección conferida por vacunas comerciales contra la enfermedad del Newcastle. Memorias del IX congreso Latinoamericano de avicultura. - Acapulco, Gro. México. 1985. pp. 841 - 849.
- 5.- Espinoza G. Leticia. Evaluación inmunológica de dos vacunas emulsionadas contra la ENC con diferente cantidad de líquido alantoideo. Memorias del IX congreso Latinoamericano de avicultura. Acapulco Gro. México. 1985. -- pp. 164 - 174.
- 6.- Herrera Villaseñor Gustavo. Seguimiento de los niveles de anticuerpos contra la ENC por la tecnica de HI en pollos de engorda inmúnizados con dos diferentes vacunas comerciales. Tesis Profesional. FES-Cuahuatitlan. UNAM México, 1985.
- 7.- Hitchner B. Stephen. Isolation and identification of avian pathogens. The American Association of Avian Pathologists. Texas A & M. University. U.S.A. 1980.

TESIS/CUCBA

- 8.- Hofstad, M. S. Disease of poultry. 8va. Ed. Iowa State University. U.S.A. 1984.
- 9.- Illescas Castillo J.J. Comunicación personal. Guadalajara Jal. México 1989.
- 10.- Junco R.A. Evaluación inmunológica de vacunas emulsionadas contra la Enfermedad del Newcastle. Memorias -- del XI congreso anual. ANECA. Puerto Vallarta, Jal. -- México. 1986. pp. 77-80
- 11.- Lozano D. Bernardo. Comportamiento en el campo de las vacunas emulsionadas comerciales contra la ENG en pollos de engorda. IX Congreso Latinoamericano de avicultura. Acapulco Gro. México. 1985. pp. 195 - 205.
- 12.- Lozano D. Bernardo. Experiencias en el campo de las diferentes pruebas de laboratorio. Memorias de Inmunología aviar. UNAM. México 1988. pp. 71 - 89.
- 13.- Lucio M.B. et. al. Enfermedades comunes de las aves domésticas. Edición del autor. México. 1985.
- 14.- Marquez Miguel A. Comparación de la prueba HI con la - prueba del desafío para evaluar 2 calendarios de vacunación contra la Enfermedad del Newcastle en pollos de engorda. Memorias del IX congreso Latinoamericano de avicultura. Acapulco Gro. México. 1985. pp. 187 - 194.
- 15.- Merck Veterinary Manual. 6th. Ed. Merck and Company Inc. U.S.A. 1986.
- 16.- Mendez Ramirez I. El protocolo de investigación. Ed. - Trillas. México. 1987.
- 17.- Monte Eraizer. Inmunización de la gallina doméstica. - Experiencias de campo en América Latina, Medio Oriente y Africa. Memorias del curso de actualización sobre -- toxicología e inmunología aviar. ANECA. México D.F. -- 1986. pp.175 - 182.
- 18.- Ochoa Tiburcio. M.V.Z. Comunicación personal. Tepati--

tlan Jal. México. 1989.

- 19.- Pérez Marquez Victor M. Aplicación de algunos métodos serológicos en la industria avícola. Memorias del curso taller sobre métodos serológicos. ANECA. Tepatitlan Jal. 1989.
- 20.- Peruzquia Jazo Maria T. Necropsia en Aves. Edit. Trillas. México 1985.
- 21.- Raya Rafael, M.V.Z. Inmunización y Manejo. Primera memoria anual de conferencias AVECAO. Guadalajara Jal. -- México 1988. pp.5 - 28.
- 22.- Reynozo Ramirez Ma. de Lourdez. Evaluación serologica de campo del grado de inmunidad contra la ENC conferido por 4 vacunas comerciales tipo virus inactivado -- emulsionado en aceite en aves de engorda. Tesis Profesional. U de G. 1983.
- 23.- Rojo Mediavilla E. Enfermedades de las aves. Edit. Trillas. México 1984.
- 24.- Sarfati M. David. et. al. Aplicación de la prueba de HI en el control de la ENC. Memorias de apoyo del laboratorio al diagnóstico. ANECA. Monterrey Nuevo León. México 1985. 57 - 65.
- 25.- Senties Cue Gabriel. Impacto económico de las principales enfermedades que afectan a las aves de engorda y postura en México. Memorias del XIII congreso anual ANECA. Acapulco Gro. México 1988. pp. 179 - 183.
- 26.- Tizard I. Inmunología Veterinaria. 2a. ed. Edit. Interamericana. 1984.
- 27.- Urquiza B Odette. et al. Evaluación estadística de la prueba de HI contra el virus de ENC en parvadas del pollo de engorda. Memorias del XIII congreso anual ANECA. Acapulco Gro. México 1988. pp. 149 - 151.