



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**EVALUACION DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA
EN LA INMUNOPROFILAXIS CONTRA EL SINDROME
HEPATICO E HIDROPERICARDICO EN POLLOS DE ENGORDA**

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Roberto Señas Cuesta

Asesores: MVZ. Angel Retana Reyes
MVZ., MPA. Marcelino E. Rosas García



México, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

| | |
|--------------------------------|-----------|
| Introducción..... | 1 |
| Hipótesis..... | 5 |
| Objetivo..... | 5 |
| Material y Métodos..... | 6 |
| Resultados..... | 10 |
| Discusión..... | 12 |
| Literatura citada..... | 17 |
| Cuadros..... | 23 |

LISTA DE CUADROS

| <u>Cuadro</u> | <u>Página</u> |
|--|---------------|
| 1..MORTALIDAD AL DESAFIO..... | 23 |
| 2..VALORES DE LA PRUEBA DE MIF ANTES DEL DESAFIO..... | 24 |
| 3..ANALISIS DE VARIANZA PARA LA PRUEBA DE MIF..... | 25 |
| 4..MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS PARA LA PRUEBA DE MIF...26 | |
| 5..PRUEBA DE VSN ANTES DEL DESAFIO..... | 27 |
| 6..ANALISIS DE VARIANZA PARA LA PRUEBA DE VSN ANTES DEL DESAFIO..... | 28 |
| 7..MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS PARA LA PRUEBA DE VSN ANTES DEL DESAFIO..... | 29 |
| 8..PRUEBA DE VSN DESPUES DEL DESAFIO..... | 30 |
| 9..ANALISIS DE VARIANZA PARA LA PRUEBA DE VSN AL DESAFIO..... | 31 |
| 10..MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS PARA LA PRUEBA DE VSN AL DESAFIO..... | 32 |

RESUMEN

SEÑAS CUESTA ROBERTO. EVALUACION DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA EN LA INMUNOPROFILAXIS CONTRA EL SINDROME HEPATICO E HIDROPERICARDICO EN POLLOS DE ENGORDA. (Bajo la dirección de: MVZ. Angel Retana Reyes y MVZ., MPA. Marcelino E. Rosas García).

Se evaluó el Factor de transferencia (FT) para la prevención del Síndrome Hepático e Hidropericárdico (SHH) en pollos de engorda. Para la elaboración del FT se utilizaron 30 aves de 45 días de edad. Se formaron 4 grupos de 35 aves cada uno y se colocaron en unidades de aislamiento. A los 15 días de edad se aplicaron los siguientes tratamientos: Grupo A: Fue inmunizado con un macerado de hígado de pollo, positivo a SHH con un título de 10^6 dosis infectante embrión de pollo (D.I.E.P.) 50% por ml, se filtró e inactivó con formol al 0.5%; grupo B: se aplicó FT elaborado contra el SHH, obtenido de sangre; grupo C: Recibió tratamiento con el FT elaborado contra el SHH, obtenido de células de bazo y timo; grupo D: Sirvió como grupo control. A los 30 días de edad los grupos se desafiaron con virus virulento con un título de 10^6 D.I.E.P. 50% por ml. Se tomaron muestras de sangre completa y suero a los 3 y 7 días después del tratamiento y del desafío. Se corrieron pruebas de virus suero neutralización (VSN), inhibición de la migración de macrófagos (MIF) y se midió la mortalidad al desafío. Los resultados mostraron que el FT de sangre confiere una mejor protección ($P < .01$).

INTRODUCCION

La Hepatitis con Cuerpos de Inclusión (HCI) fue descrita en 1963 por Helmbolt y Frazier en dos parvadas de pollo de engorda de siete semanas de edad (1, 2, 13, 18, 20, 24, 25). En México fue diagnosticada en 1974 por Antillón y Lucio, en una parvada de 20 mil pollos de engorda de seis semanas de edad, procedente del Valle de México (2, 3). La parvada mostró aumento en la mortalidad, somnolencia, plumas erizadas, poliuria y anemia. La morbilidad fue del 2% y la mortalidad del 0.5%. A la necropsia, las lesiones consistían en hemorragias petequiales y equimóticas en hígado, riñón, músculo esquelético, proventrículo, miocardio, serosa duodenal y timo; también se presentó atrofia de la bolsa de Fabricio y timo, hepatomegalia, erosión y ulceración de la molleja, anemia aplástica y edema pulmonar (2, 3).

A principios de la década de los setentas, se informó en diferentes países sobre la aparición del Síndrome hepático e hidropericárdico (SHH) en pollos, el cual fue notificado por: Howell et. al. (1970), en Canadá (13, 18, 20, 32, 33); Young et. al. (1972), en Irlanda (1, 20, 22); Wells y Harrigam (1974), en Australia (9, 18, 20, 22, 28, 29, 34) y Nueva Zelanda (17, 33, 34), entre otros.

En 1990 a través de una encuesta realizada por la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas

A.C. de México, se detectó la presencia del SHH en los estados de Aguascalientes, Estado de México, Jalisco, Morelos y Querétaro, ocasionando mortalidades del 30% al 70% (35).

El SHH es conocido y diagnosticado como HCI a través de histopatología, citología e inmunofluorescencia (7). El adenovirus es el agente más importante aislado hasta la fecha (3, 6, 19, 21, 22, 27, 31, 32,). Afzal et. al. (4) mencionan que probablemente existe un factor desconocido que actúa en forma simultánea con el adenovirus serotipo XI.

Los adenovirus son partículas virales desnudas, ácido nucléico ADN doble banda, diámetro de 70 a 100 nm, peso molecular de 20 a 25 x 10⁶ Daltons, de forma icosaédrica en cuya cápside se localizan 252 capsómeros esféricos y elongados (22, 30).

Los adenovirus aviares se clasifican en grupo 1: Virus convencionales o F1; grupo 2: Virus asociados al síndrome de baja postura y grupo 3: Virus asociados con la enteritis hemorrágica de los pavos (8, 22, 30).

Las medidas de prevención y control usadas contra SHH son:

- 1) Bioseguridad: contempla limpieza y desinfección;
- 2) Control de agentes inmunosupresores como micotoxinas y pesticidas, entre los principales;
- 3) Vacunación contra SHH: se han llevado a cabo varios ensayos en diferentes países con vacunas tanto de virus activo atenuado como a virus muerto

emulsionado (26).

Una alternativa para la prevención del SHH es transferir inmunidad. Lawrence en 1954 (19) encontró que los extractos leucocitarios son capaces de transferir inmunidad celular y humoral, produciendo en el receptor hipersensibilidad cutánea retardada, estimulación linfocítica y producción de mediadores de inmunidad celular al cual llamó Factor de Transferencia (FT). El FT se libera por lisis de linfocitos B y T. Una unidad de FT se define como el dializado de quinientos millones de leucocitos (12, 15, 19, 38).

Entre las características del FT encontramos las siguientes: soluble, dializable y orcitól positivo. Retiene su actividad por lo menos 8 horas a temperaturas entre 25 C a 37 C, tiene la capacidad para transferir hipersensibilidad de tipo retardada con material de bajo peso molecular. También es inmunológicamente inespecífico, transforma linfocitos normales (no sensibles) in vitro e in vivo para que respondan al antígeno (12, 14, 15, 19).

Aunque se desconoce el mecanismo de acción del FT se han presentado las hipótesis siguientes: 1) Es una molécula de información que estimula a las células específicas contra un antígeno y su proliferación clonal. 2) Incrementa la actividad quimiotáctica de los granulocitos y de forma

específica la de los monocitos, además de actuar como adyuvante. 3) Depende del estado inmunológico del receptor más que de cualquier efecto causado por la proporción de información del FT. 4) Actúa como mitógeno, acelerando la producción y diferenciación de las células del sistema inmune, regulando con ello la respuesta (15, 19, 38).

En medicina veterinaria el FT se ha estudiado en enfermedades como infecciones del aparato digestivo y respiratorio en becerros; enfermedad de Newcastle en aves; Aujeszky, Rinitis atrófica, Cólera y colibacilosis en cerdos; obteniéndose resultados satisfactorios (5, 10, 16, 21, 27, 31).

HIPOTESIS

El FT elaborado contra SHH confiere protección en pollos de engorda.

OBJETIVO

Evaluar el FT en la prevención contra el SHH en pollos de engorda.

MATERIAL Y METODOS

La investigación se realizó en las unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. El FT se obtuvo mediante el siguiente procedimiento (11):

1) Se utilizaron 30 aves de 45 días de edad, clínicamente sanas. Las aves fueron inmunizadas con un macerado de hígados de aves positivas a SHH, con un título de 10^6 dosis infectante embrión de pollo (D.I.E.P.) 50% por ml, previamente filtrados e inactivados con formol al 0.5%, por vía subcutánea a una dosis de 0.5 ml por ave. Las aves se desafiaron y se obtuvieron 50 ml de sangre al sacrificio, en un frasco estéril que contenía 100 mg de E.D.T.A. por ave.

2) La sangre se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos. Posteriormente se obtuvo la capa flogística donde se encuentran los linfocitos.

3) La capa flogística se puso en 10 ml de solución salina básica (PBS), se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos. Este procedimiento se repitió 3 veces.

4) El centrifugado se sometió a cambios rápidos de temperatura para lisar los linfocitos y se colocó en una membrana durante 12 horas para realizar la dialización. Se obtuvo el líquido exterior a la membrana; que es donde se encuentra el FT.

5) Se colocó en un frasco estéril, adicionándole 10 mg de estreptomina y 10,000 U.I. de penicilina procaínica y benzatínica.

Para elaborar el FT de bazo y timo se extrajeron el bazo y timo, se realizó un macerado suspendido en E.D.T.A.; se centrifugó y filtró; y se realizó la misma metodología que con la sangre.

Se utilizaron 140 pollos de engorda de un día de edad, estirpe Arbor Acres por Arbor Acres, los cuales se dividieron en 4 grupos de 35 aves cada uno de la siguiente manera:

Grupo A: Fue inmunizado con un macerado de hígado de pollo, positivo a SHH con un título de 10^6 D.I.E.P. 50% por ml que fue filtrado e inactivado con formol al 0.5% (Autovacuna).

Grupo B: Se aplicó FT elaborado contra el SHH, obtenido de sangre.

Grupo C: Recibió tratamiento con el FT elaborado contra el SHH, obtenido de células de bazo y timo.

Grupo D: Grupo control (sin tratamiento).

Los tratamientos se aplicaron por vía subcutánea a una dosis de 0.5 ml por ave a los 15 días de edad en los grupos A, B y C. En los grupos B y C se aplicó una unidad de FT. A los 30 días de edad se desafiaron con un virus virulento de SHH con un título de 10^6 D.I.E.P. 50% por ml.

Para la medición de la respuesta inmunológica, de cada uno

de los grupos se utilizaron 10 aves al azar y se les hicieron pruebas de factor de inhibición de la migración de macrófagos (MIF), virus suero neutralización (VSN) al 3^o y 7^o día posterior a la aplicación del tratamiento y desafío. También se midió la mortalidad al desafío (23, 38). A todos los muertos se les realizó la necropsia e histopatología.

Para la comparación de los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de la literatura, se utilizó el índice de neutralización (IN) definido como la diferencia entre el número de dosis infectantes neutralizado por el suero problema y por un suero negativo conocido (38).

El análisis de la información se realizó con el método de Cuadrados Mínimos, usando el procedimiento de Modelos Lineales Generalizados (GLM), del paquete de análisis estadístico SAS (36). Para evaluar la respuesta inmune se utilizó un análisis de Varianza para Efectos Fijos mediante el siguiente modelo (37):

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + D_j + \tau D_{(ij)} + \xi_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor obtenido del k-ésimo grupo en el j-ésimo día de medición en el i-ésimo tratamiento;

μ = Media General;

τ_i = Efecto fijo de i-ésimo tratamiento; $i = 1, 2, 3, 4$;

D_j = Efecto fijo del j-ésimo día de la medición;

$$j = 3, 7;$$

$\tau_{D(ij)}$ = Efecto de interacción de primer orden;

ϵ_{ijk} = Error aleatorio NID $(0, \sigma^2)$.

Para evaluar la mortalidad se utilizó la prueba exacta de Fisher (37).

RESULTADOS

A la necropsia se encontró que el 100% de las aves mostraron lesiones características de SHH (HCI). Al realizar la histopatología de hígado, bazo, bolsa de Fabricio y timo se encontró que el 100% de las aves muertas al desafío, tenían cuerpos de inclusión intranucleares basófilos y eosinófilos en los hepatocitos. En algunas aves también se observó depleción linfoide en bazo; vasos sanguíneos medulares congestionados en timo y lesiones de fase aguda de infección de la bolsa de Fabricio.

La mortalidad al desafío se presenta en el cuadro 1, en el cual se observa que la mayor cantidad de muertos es del día 3 al día 6 postinoculación y que el grupo de FT de sangre tiene la menor mortalidad ($P < .05$).

Los resultados de la prueba de MIF antes del desafío se muestran en el cuadro 2. En el cuadro 3 se muestra el análisis de varianza para la prueba de MIF; en donde se encontró un efecto significativo entre los tratamientos ($P < .01$).

En el cuadro 4 se muestran las medias de cuadrados mínimos para la prueba de MIF. Se observa que los grupos de la autovacuna (A) y FT de sangre (B) presentaron mayor inhibición de la migración de macrófagos, en comparación con los otros grupos ($P < .01$).

Los valores obtenidos de la prueba de VSN, de las aves antes del desafío se muestran en el cuadro 5. El análisis de varianza se muestra en el cuadro 6. Se encontró que el tratamiento ($P < .01$), el día de medición ($P < .05$) y la interacción tratamiento por día de medición ($P < .10$) resultaron significativos. Las medias de cuadrados mínimos para la prueba de VSN antes del desafío se muestran en el cuadro 7, donde todos los grupos se comportan de manera diferente; sin embargo, el FT de sangre confiere mayor protección ($P < .05$).

Los valores obtenidos de la prueba de VSN, de las aves después del desafío se muestran en el cuadro 8. Los resultados del análisis estadístico se muestran en el cuadro 9 en donde se encontró que el tratamiento y la interacción tratamiento por día de medición resultarán significativos ($P < .01$). En el cuadro 10 se observa que el FT de sangre confiere mayor protección ($P < .01$).

DISCUSION

Los hallazgos a la necropsia coinciden con los resultados obtenidos por Antillón y Lucio (2), se confirmó por histopatología que el 100% de las aves tuvieron la lesión más característica de la enfermedad que son los cuerpos de inclusión intranucleares en los hepatocitos (7). El porcentaje de mortalidad en los grupos A, C y D se comportó como se describe en la literatura (35); mientras que en el grupo B el porcentaje de mortalidad fue menor.

La mayor cantidad de muertos postdesafío, fue del 3^o al 6^o día y esto concuerda con lo descrito por Saifuddin y Wilks (34), quienes mencionan que el virus tiene una alta replicación en las células hepáticas entre el 4^o y el 7^o día causando hemorragias, necrosis y daño hepático.

En cuanto a los valores obtenidos de la prueba de VSN, antes y después del desafío, se calculó el IN para compararlo con los resultados de otros autores (3, 9, 23, 25), se debe tomar en cuenta el título del agente viral, la dosis infectante utilizada en la prueba, la vía de administración del agente viral cuando se desafío y donde se realizó (cultivo celular o embrión de pollo).

Cubillos et. al. (9) obtuvieron un IN de 2.4 utilizando 200 dosis infectantes en cultivo de tejido (T.C.I.D.) 50% por ml y un título del virus de 4.7 T.C.I.D. 50% por ml. La vía de

administración del virus fue intraperitoneal y oral. Aunque la diferencia entre dicha investigación y el presente trabajo es grande, se puede decir que los resultados indican que la cantidad de anticuerpos son suficientes para una protección.

Otsuki et. al. (25) obtuvieron un IN de 4.7 para lo cual utilizaron una dosis infectante baja y un título de agente viral alto. Los resultados entre dicha investigación y el presente trabajo tiene una similitud en la realización de la prueba.

Antillón (3), obtuvo un IN de 2.3 a 3.8 lo cual indica la variación que puede haber en la prueba y un cierto rango en la misma. Este resultado es similar al obtenido en el presente trabajo (3).

Montgomery indica que con un título de $10^{3.6}$ de D.I.E.P. 50% por ml, es suficiente para obtener una respuesta serológica significativa y menciona un rango de IN 2.8 a 3.9 el cual es similar al del presente trabajo (23).

En la prueba de VSN antes del desafío, se encontró que todos los grupos se comportaron de diferente manera; sin embargo, el FT de sangre (B) confiere una mayor protección. Al realizarse la comparación al día de muestreo, se observó que al día 7 se tenía mayor protección que al día 3 ($P < .05$). Lo anterior indica que el desarrollo de la respuesta inmune humoral se comportó de manera normal.

En la prueba de VSN después del desafío, se obtuvo que el FT de sangre tuvo una dilución promedio de 1:56, mientras que en los otros grupos se obtuvo un rango de 1:15 hasta 1:26. Lo anterior indica que el FT de sangre (B) estimula mejor la producción de anticuerpos contra el SHH en pollos de engorda. También se encontró que no hubo diferencia en los valores de las diluciones del 3^o al 7^o día. Lo anterior indica que la cantidad de anticuerpos producida por el ave se incrementa rápidamente al inicio (del 1^o al 3^o día), y después el incremento es lento (del 4^o al 7^o día); esto es debido a las células de memoria que se forman al aplicar los tratamientos.

La prueba de MIF no se pudo comparar con otros autores debido a que no hay estudios al respecto. En la prueba de MIF antes del desafío se observó que el grupo A (autovacuna) tuvo resultados muy altos en comparación con los demás grupos. Esto fue debido a que se utilizó el mismo antígeno en la prueba de MIF y en la elaboración de la autovacuna. En cuanto a los demás grupos se observó que el FT de sangre tuvo la mejor inhibición de la migración de macrófagos. Al hacer la comparación entre días de muestreo, se observó que al día 3 se alcanzan los valores máximos de MIF y que no hay una diferencia importante al compararlo con el día 7. Lo anterior indica que la inmunidad celular se incrementa rápidamente hasta el día 3 y después disminuye en forma lenta hasta el

día 7.

En cuanto a la prueba de MIF después del desafío, no se realizó por que al aplicar el antígeno a las aves se estimularía el sistema inmune y por lo tanto la inmunidad celular, dando resultados similares en todos los grupos.

El FT confiere inmunidad tanto específica como inespecífica. La inmunidad específica se puede producir desde que se hiperinmuniza un ave contra determinado antígeno, logrando la producción de linfocitos T y B activos contra dicho antígeno. Al elaborar el FT de sangre, se busca que la inmunidad de las aves hiperinmunizadas pase a aves sin inmunidad. Los estudios realizados (38) indican que se liberan poliribonucleopéptidos que contienen fragmentos del receptor para linfocitos T y junto con otros componentes del FT (histamina y timosina), estimulan la producción de interleucinas y la división celular de los linfocitos desarrollando así una respuesta inmune.

El FT tiene muchas limitaciones, por ejemplo, no funciona en animales inmunodeprimidos, varia su acción de un individuo a otro y la forma en que se fabrica, entre otros.

Por lo tanto, el FT se debe usar como preventivo en animales clínicamente sanos, auxiliar en la prevención de enfermedades y en la bioseguridad de las explotaciones avícolas.

Los resultados del presente estudio indican que el FT de sangre confiere una mejor y adecuada respuesta inmune humoral y celular. La respuesta inmune celular es mayor y se desarrolla en menor tiempo. Por lo tanto, al desafío se demostró que protege mejor al tener la menor mortalidad, siempre y cuando se sigan las recomendaciones descritas anteriormente.

LITERATURA CITADA

- 1- Al-Sheikhly, F. and Mutalib, A. A.: Inclusion body hepatitis in broiler chickens in Iraq. Avian Dis. 23: 763-767 (1980).
- 2- Antillón, A. and Lucio, B.: Inclusion body hepatitis in Mexico. Avian Dis. 19: 195-197 (1975).
- 3- Antillón, A.: Hepatitis con cuerpos de inclusión (HCI): Su presencia en la República Mexicana. Vet. Méx. 11: 13-16 (1980).
- 4- Afzal, M., Muneer, R. and Stein, G.: Studies on the aetiology of hydropericardium syndrome (Angara disease) in broilers. Vet. Rec. 128: 591-593 (1991).
- 5- Arellano, L. J.: Efecto de la utilización del factor de transferencia como inmunopotenciador celular para el control y prevención de la rinitis atrófica. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1988.
- 6- Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., Reid, W. M. and Yoder, H. W.: Diseases of poultry. 9th Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A., 1991.
- 7- Ceniceros, R.: Diagnóstico de hepatitis con cuerpos de inclusión mediante la prueba de inmunofluorescencia. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1991.

8- Cook, Jane K. A.: Fowl adenoviruses: Studies on aspects of the pathogenicity of six strains for 1-Day-Old chicks. Avian Pat. 12: 35-43 (1983).

9- Cubillos, A., Sandoval, G., Ulloa, J., Cubillos, V. y Aguilar, M.: Aislamiento y tipificación del virus hepatitis a cuerpo de inclusión en broilers, en Chile. Arch. Med. Vet. 18 (2): 115-122 (1986).

10- Chávez, G. L.: Efecto de la utilización del factor de transferencia como inductor en la inmunidad celular en la prevención del cólera porcino. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1988.

11- Domermuth, C. H., Weston, C. R., Cowen, B. S., Colwell, M. W., Gross, W. B. and DuBose, R. T.: Incidence and distribution of avian adenovirus group II splenomegaly of chickens. Avian Dis. 24: 591-594 (1980).

12- Estrada, P. S., Rébora, F., Díaz, M. L. y Padierna, J.: Inmunoterapia de la tuberculosis pulmonar avanzada con factor de transferencia específico. Sal. Pub. Méx. 25: 579-588 (1983).

13- Fadly, A. M. and Winterfield, R. W.: Antigenic characterization of the inclusion body hepatitis virus. Am. J. Vet. Res. 36 (4): 532-534 (1975).

- 14- Fernández, R. T.: Evaluación del efecto del factor de transferencia mediante pruebas "in vitro". Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D. F., 1985.
- 15- Fundenberg, H. H.: Transfer factor: Past, present and future. Annu. Rev. Pharm. Tox. 29: 475-516 (1989).
- 16- Giambrone, J. J., Klesius, P. H. and Yu, M.: Adoptive transfer of delayed wattle reactivity in chickens with a dializable leucocyte extract containing transfer factor. Poult. Sci. 62: 761-771 (1983).
- 17- Green, A. F. and Clarke, J. K.: Detection of four serotypes of avian adenovirus in New Zealand. Avian Dis. 20: 236-241 (1976).
- 18- Hoffmann, R., Wessling, E., Dorn, P. and Dangschat, H.: Lesions in chickens with spontaneous or experimental infectious hepato-myelopoietic disease (inclusion body hepatitis) in Germany. Avian Dis. 19: 224-236 (1975).
- 19- Lawrence, H. S.: The transfer factor in humans of delayed skin sensitivity to the Streptococcal M substance and tuberculin with disrupted leucocytes. J. Clin. Inv. 64: 219-230 (1954).
- 20- Lotsy, J., Solórzano, S. A., González, A. J. y Schat, A. K.: Hepatitis por corpúsculos de inclusión. I. Aislamiento de un virus. Téc. Pec. 29: 41-46 (1975).

- 21- Mateos R.: El Factor de transferencia como biológico en la inmunoterapia en becerros lactantes clínicamente enfermos. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1990.
- 22- McFerran, J. B. and Adair, B. McC.: Avian adenoviruses. A Review. Avian Path. 6: 189-217 (1977).
- 23- Montgomery, R. D.: Certain parameters of the virus-serum neutralization response of chickens exposed to an inclusion body hepatitis virus agent. Avian Dis. 18: 623-626 (1974).
- 24- Nayak, N. C., Chakraborty, T., Chakrabarti, S., and Chakrabarti, A.: An outbreak of inclusion body hepatitis in broiler chickens in west Bengal. Ind. Vet. J. 67: 7-9 (1990).
- 25- Otsuki, K., Tsubokura, M., Yamamoto, H., Imamura, M., Sakagami, Y., Saio, H. and Hosokawa, D.: Some properties of avian adenoviruses isolated from chickens with inclusion body hepatitis in Japan. Avian Dis. 20: 693-705 (1977).
- 26- Ramírez J. H.: Hepatitis con cuerpos de inclusión: Prevención y control. Memorias del seminario sobre hepatitis con cuerpos de inclusión. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. (1991). 15-24.
- 27- Ramírez, V. G. R.: Evaluación del factor de transferencia en la vacunación contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorda. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1989.

- 28- Reece, R. L., Barr, D. A. and Grix, D. C.: An investigation of vertical transmission of a fowl adenovirus serotype 8. Aust. Vet. Jour. 62: 136-137 (1985).
- 29- Reece, R. L., Barr, D. A. and Grix, D. C.: Observations on naturally occurring inclusion body hepatitis in Victorian chickens. Aust. Vet. Jour. 63: 201-202 (1986).
- 30- Retana, R. A.: Generalidades del virus "asociado" a hepatitis con cuerpos de inclusión en las aves. Memorias del Seminario Sobre Hepatitis Con Cuerpos de Inclusión. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. (1991). 1-7.
- 31- Rodríguez, L. A.: El factor de transferencia en la enfermedad de Aujeszky. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1987.
- 32- Rosenberger, J. K., Eckroade, R. J., Klopp, S. and Krauss, W. C.: Characterization of several viruses isolated from chickens with inclusion body hepatitis and aplastic anemia. Avian Dis. 18: 399-409 (1974).
- 33- Saifuddin, Md. and Wilks, C. R.: Reproduction of inclusion body hepatitis in conventionally raised chickens inoculated with a New Zealand isolate of avian adenovirus.: New Zealand Vet. Jour. 38: 62-65 (1990).
- 34- Saifuddin, Md. and Wilks, C. R.: Pathogenesis of an acute

viral hepatitis: inclusion body hepatitis in the chicken.

Arch. Vir. 116: 33-43 (1991).

35- Sarfatti D., Ramírez H., Reynaldo A. y Lucio E.: Encuesta epizootológica y notificación de brotes de hepatitis con cuerpos de inclusión en México. Memorias del Seminario Sobre Hepatitis con Cuerpos de Inclusión. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1991). 8-14.

36- S.A.S.: SAS/STAT User's guide. 4th. Ed. SAS inst. inc., Cary, N.C., U.S.A. 1990.

37- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H.: Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 2th. Ed. McGraw Hill Book Co. Inc., New York, 1980.

38- Tizard, I.: Inmunología veterinaria. 3a. ed. Interamericana, México, D.F., 1990.

CUADRO 1.

MORTALIDAD AL DESAFIO

| DIA | T R A T A M I E N T O | | | |
|-------|-----------------------|----------------|----------------------|----------------|
| | AUTOVACUNA | FT DE SANGRE | FT DE BAZO Y TIMO | CONTROL |
| 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 2 | 0 | 0 | 1 |
| 4 | 2 | 0 | 3 | 2 |
| 5 | 2 | 0 | 3 | 3 |
| 6 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TOTAL | 8 ^a | 2 ^b | 9 ^a | 9 ^a |
| % | 22.85 | 5.71 | 25.71 | 25.71 |

a,b; Valores en el mismo renglón con diferente literal difieren estadísticamente ($P < .05$).

CUADRO 2.

VALORES DE LA PRUEBA DE MIF* ANTES DEL DESAFIO

| AUTOVACUNA | | FT DE SANGRE | | FT DE BAZO Y TIMO | | CONTROL | |
|------------|-------|--------------|-------|-------------------|-------|---------|-------|
| DÍA 3 | DÍA 7 | DÍA 3 | DÍA 7 | DÍA 3 | DÍA 7 | DÍA 3 | DÍA 7 |
| 100 | 100 | 21.5 | 31.5 | 5.0 | 3.0 | 0.0 | 0.0 |
| 93 | 100 | 15.8 | 42.3 | 7.5 | 8.5 | 2.0 | 1.2 |
| 87 | 100 | 13.5 | 51.5 | 10.1 | 12.5 | 1.0 | 1.0 |
| 49 | 93 | 16.7 | 71.7 | 13.15 | 13.1 | 2.5 | 7.0 |
| 100 | 47 | 31.5 | 38.3 | 21.22 | 7.0 | 3.0 | 13.0 |
| 97 | 83 | 71.5 | 42.3 | 31.15 | 5.1 | 5.3 | 12.0 |
| 81 | 99 | 25.7 | 17.3 | 9.5 | 7.3 | 2.3 | 18.0 |
| 77 | 100 | 42.3 | 22.7 | 10.5 | 12.3 | 2.6 | 5.0 |
| 100 | 100 | 21.7 | 18.2 | 7.1 | 15.1 | 17.0 | 7.0 |
| 74 | 100 | 21.0 | 30.0 | 2.1 | 9.7 | 19.0 | 2.1 |

* Valores expresados en porcentaje

CUADRO 3.

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA PRUEBA DE MIF

| FUENTE DE VARIACION | G. L. | C. M. |
|---------------------|-------|------------|
| TRATAMIENTO. | 3 | 29460.45** |
| DIA | 1 | 107.83 |
| TRATAMIENTO POR DIA | 3 | 178.91 |
| ERROR | 72 | 157.25 |

** (P < .01)

CUADRO 4.

**MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS
PARA LA PRUEBA DE MIF***

| TRATAMIENTO | MEDIA |
|-------------------|-------|
| AUTOVACUNA | 32ac |
| FT DE SANGRE | 19ac |
| FT DE BAZO Y TIMO | 79d |
| CONTROL | 55bd |

*Valores expresados en porcentaje.

ab $P < .01$

cd $P < .05$

CUADRO 5.

PRUEBA DE VSN* ANTES DEL DESAFIO

| AUTOVACUNA | | FT DE SANGRE | | FT DE BAZO Y TIMO | | CONTROL | |
|------------|-------|--------------|-------|-------------------|-------|---------|-------|
| DIA 3 | DIA 7 | DIA 3 | DIA 7 | DIA 3 | DIA 7 | DIA 3 | DIA 7 |
| 1:80 | 1:40 | 1:80 | 1:40 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 |
| 1:20 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:40 | 1:80 | 1:10 | 1:20 |
| 1:40 | 1:40 | 1:80 | 1:40 | 1:40 | 1:40 | 1:20 | 1:40 |
| 1:20 | 1:80 | 1:160 | 1:40 | 1:40 | 1:40 | 1:20 | 1:20 |
| 1:40 | 1:80 | 1:80 | 1:20 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 |
| 1:20 | 1:20 | 1:40 | 1:40 | 1:20 | 1:20 | 1:40 | 1:20 |
| 1:80 | 1:80 | 1:40 | 1:80 | 1:20 | 1:20 | 1:10 | 1:10 |
| 1:40 | 1:160 | 1:80 | 1:160 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:40 |
| 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:80 | 1:20 | 1:40 | 1:20 | 1:20 |
| 1:20 | 1:160 | 1:80 | 1:160 | 1:20 | 1:20 | 1:10 | 1:10 |

* Valores expresados en diluciones dobles seriadas

CUADRO 6.

**ANALISIS DE VARIANZA PARA
LA PRUEBA DE VSN ANTES DEL DESAFIO**

| FUENTE DE VARIACION | G. L. | C. M. |
|---------------------|-------|----------|
| TRATAMIENTO. | 3 | 14.37*** |
| DIA | 1 | 3.61** |
| TRATAMIENTO POR DIA | 3 | 1.44* |
| ERROR | 72 | 0.58 |

***($P < .01$)

**($P < .05$)

*($P < .10$)

CUADRO 7.

**MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS
PARA LA PRUEBA DE VSN ANTES DEL DESAFIO***

| TRATAMIENTO | MEDIA |
|-------------------|--------------------|
| AUTOVACUNA | 39.28 ^c |
| FT DE SANGRE | 16.81 ^d |
| FT DE BAZO Y TIMO | 62.27 ^a |
| CONTROL | 42.87 ^b |

*Valores expresados en diluciones dobles seriadas.

abcd (p < .05)

CUADRO 8.

PRUEBA DE VSN* DESPUES DEL DESAFIO

| AUTOVACUNA | | FT DE SANGRE | | FT DE BAZO Y TIMO | | CONTROL | |
|------------|-------|--------------|-------|-------------------|-------|---------|-------|
| DIA 3 | DIA 7 | DIA 3 | DIA 7 | DIA 3 | DIA 7 | DIA 3 | DIA 7 |
| 1:40 | 1:80 | 1:80 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:80 | 1:20 |
| 1:40 | 1:20 | 1:40 | 1:20 | 1:10 | 1:20 | 1:10 | 1:20 |
| 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:40 | 1:10 | 1:40 | 1:10 | 1:20 |
| 1:20 | 1:10 | 1:80 | 1:80 | 1:20 | 1:80 | 1:20 | 1:10 |
| 1:10 | 1:20 | 1:80 | 1:20 | 1:10 | 1:20 | 1:10 | 1:20 |
| 1:10 | 1:20 | 1:160 | 1:20 | 1:10 | 1:10 | 1:20 | 1:20 |
| 1:40 | 1:10 | 1:80 | 1:40 | 1:10 | 1:80 | 1:20 | 1:10 |
| 1:40 | 1:20 | 1:160 | 1:160 | 1:10 | 1:40 | 1:10 | 1:20 |
| 1:10 | 1:10 | 1:80 | 1:40 | 1:20 | 1:10 | 1:10 | 1:20 |
| 1:20 | 1:10 | 1:80 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:10 | 1:10 |

* Valores expresados en diluciones dobles seriadas

CUADRO 9.

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA
PRUEBA DE VSN AL DESAFIO.

| FUENTE DE VARIACION | G. L. | C. M. |
|---------------------|-------|---------|
| TRATAMIENTO. | 3 | 15.10** |
| DIA | 1 | 0.025 |
| TRATAMIENTO POR DIA | 3 | 4.15** |
| ERROR | 72 | 0.67 |

**($P < .01$)

CUADRO 10.

**MEDIAS DE CUADRADOS MINIMOS
PARA LA PRUEBA DE VSN AL DESAFIO**

| GRUPO | MEDIA |
|--------------------------|-------------------------|
| AUTOVACUNA | 4.12^a |
| FT DE SANGRE | 3.95^a |
| FT DE BAZO Y TIMO | 5.82^b |
| CONTROL | 4.22^a |

a,b: Valores con diferente literal son diferentes estadísticamente ($P < .01$).