

143
Res.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LA RESPUESTA SEROLOGICA DE
TRES VACUNAS EMULSIONADAS DEL VIRUS DE LA
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN EL CAMPO Y
NIVEL DE PROTECCION ANTE UN DESAFIO CON
UNA CEPA DE ALTA PATOGENICIDAD BAJO
CONDICIONES CONTROLADAS EN POLLO
DE ENGORDA.**

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

POR

MARCO ANTONIO JUAREZ ESTRADA

**Asesores : MVZ MC PhD Guillermo Téllez Isaías
MVZ Magdalena Escorcía Martínez**



MEXICO, D. F.

1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**EVALUACION DE LA RESPUESTA SEROLOGICA DE TRES VACUNAS
EMULSIONADAS DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN EL
CAMPO Y NIVEL DE PROTECCION ANTE UN DESAFIO CON UNA CEPA DE ALTA
PATOGENICIDAD BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN POLLO DE ENGORDA.**

**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por
Marco Antonio Juárez Estrada**

**Asesores:
MVZ MC PhD Guillermo Téllez Isaías
MVZ Magdalena Escorcía Martínez**

México D.F.

1995

DEDICATORIA

Deseo dedicar este trabajo a mi Padre Dr. Heriberto Elías Juárez Brito y a mi Madre Sra. Delia Estrada Garduño por el apoyo incondicional y la confianza que siempre me han brindado.

A mi Hermano

Eduardo Enrique In Memoriam

A mi Tío

Alfonso In Memoriam

A mis Hermanos:

José Ariel, Martha Dinorah, Adriana Elizabeth, Claudia Isabel,
Alejandro, Elías y Delia.

A mi Tía

Tere

A mi Prima

Margarita

Por siempre mi Familia

A mis Amigos:

Arturo, Vinicio, Saúl, Fernando y Raúl

Leonel y Cristina

Miguel y Maricela

Por ser eso: mis Amigos

Especialmente a ti...

María del Pilar

Por ser como eres

-"Porque la fuente de la Razón es el corazón del mundo"

Amia Minulli

-"Porque soy y vivo en el presente que es todo lo que hay"

F. Cabral

-"Para mí sólo recorrer los caminos que tienen corazón, cualquier camino que tenga corazón".

Don Juan

-"Vosotros miráis hacia arriba cuando ansiáis elevaros; yo miro hacia abajo, pues estoy elevado.

¿Cuál de vosotros puede reír y estar elevado a un tiempo?

Quien escala las más altas cimas se ríe de todas las tragedias, reales y ficticias".

Zaratustra

E PLURIBUS UNUM . . .

AGRADECIMIENTOS

A ti señor, altísimo, invicto, innombrable señor, porque a imagen y semejanza, a semejanza e imagen tuya me creaste.

A la Universidad por constituir un remanso para los espíritus inquietos, ávidos de conocimiento.

Por haberme abierto las puertas en el justo momento.

A mi querida Facultad por constituir la base de mi formación profesional en especial al Departamento de Producción Animal: Aves.

A mis Asesores:

MVZ. Ph. D. Guillermo Telléz Isaías por su invaluable apoyo y por creer antes que todo en la fuerza de la Naturaleza Humana.

MVZ. Magdalena Escorcía Martínez por el oportuno apoyo técnico.

A los MVZ Juan Agustín Torres Islas, MVZ Gustavo Victoria Morales y al MVZ Guillermo Luna por la invaluable ayuda otorgada para la realización de este trabajo.

Al MVZ José Antonio Quintana López por sus pertinentes sugerencias.

A la MVZ María de la Luz Charles Noriega por su incomparable apoyo.

A la MVZ María Elena Rúbio García por sus valiosas observaciones.

Al MVZ MC Miguel Ángel Ceniceros Ruíz por la crítica adecuada.

A todas las personas que colaboraron en la realización de este trabajo.

GRACIAS ...

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	18
DISCUSION.....	24
LITERATURA CITADA.....	34
CUADROS.....	41
FIGURAS.....	47

RESUMEN

JUAREZ ESTRADA MARCO ANTONIO. Evaluación de la respuesta serológica de tres vacunas emulsionadas del virus de la enfermedad de Newcastle en el campo y nivel de protección ante un desafío con una cepa de alta patogenicidad bajo condiciones controladas en pollo de engorda (Bajo la dirección del MVZ, PhD Guillermo Téllez Isaías y la MVZ Magdalena Escorcía Martínez)

Tres vacunas emulsionadas contra la enfermedad de Newcastle (ENC) de diferente volumen ALFA (0.1 ml), BETA (0.3 ml) y GAMMA (0.5 ml) fueron aplicadas al día 1 y 8 de edad, a 5 grupos (A, B, C, D y E) de pollos de engorda alojados en una granja comercial, evaluados bajo tres esquemas de inmunización diferentes, a través de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH) y nivel de protección al desafío con una cepa altamente patógena de la ENC, se utilizaron 15 muestras semanales por grupo para la obtención de Títulos Geométricos Medios (TGM); se realizaron tres desafíos (45 aves por grupo) a los 21 días, (Grupo A vacuna ALFA, Grupo C vacuna ALFA y Grupo D vacuna BETA) a los 28 días (Grupo B vacuna ALFA y Grupo E vacuna GAMMA) y a los 56 días (todos los grupos), en cada desafío se incluyó un grupo testigo sin inmunizar, se evaluaron los principales parámetros productivos, los resultados serológicos muestran que los grupos A, B y C, indujeron TGM bajos y tardíos, los grupos D y E alcanzaron TGM más altos, tempranos y estables; en el desafío al día 21 el grupo C obtuvo un nivel de protección de 37.78 %, el A de 55.56 %, el D de 93.34 % y el testigo de 0.0 %; en el desafío al día 28 el grupo B 93.34 %, el E 95.56 % y el Testigo 0.0 %, a los 56 días sólo el grupo A presentó una mortalidad de 4.44 %, el testigo del 93.33 % y el resto de los grupos de 0.0 %. Los resultados sugieren una falla al momento de inyectar la vacuna ALFA, debido al bajo volumen de aplicación, la elevación de TGM a la quinta semana de los grupos A, B y C se debe a la vacunación con la cepa La Sota, es factible que haya existido un grado de interferencia con anticuerpos maternos al momento de la aplicación, lo que ocasionó el bajo rendimiento de los grupos A, B y C, los parámetros productivos fueron menores a los del grupo D y E, que tuvieron programas de inmunización con mejores resultados.

INTRODUCCION

La Enfermedad de Newcastle (ENC) es una infección viral altamente contagiosa, afecta aves de todas las edades, principalmente aves jóvenes, provoca pérdidas económicas importantes debido a que ocasiona descenso de los parámetros productivos y en el caso de cepas de alta patogenicidad produce altas mortalidades (4,5,19,29).

Doyle describió en 1926 un brote de la enfermedad en Inglaterra, el mismo año se describió en Java y Corea, al año siguiente se reportó en la India y Filipinas (5,10). La epizootia en el norte de Inglaterra fué en Newcastle-Upon Tyne, de donde tomó su nombre. En los siguientes veinte años la enfermedad se reportó presente en muchos países de Europa, Asia y África, así como en Japón y Australia (4,5). En 1944 se constató que estaba presente en Estados Unidos y en 1948 la enfermedad se encontraba establecida en todo ese país, las características de la enfermedad variaron en forma y tipo de presentación dependiendo del sitio de brote, en la costa este fue más benigna e inaparente al contrario de la costa oeste donde fue más virulenta y produjo una enfermedad seria caracterizada por neumoencefalitis (4,10,55,64).

El Virus de la Enfermedad de Newcastle (VENC) ha sido introducido a los Estados Unidos en varias ocasiones de donde se ha erradicado de cada uno de los brotes, el más serio comenzó en noviembre de 1971 en el Sur de California, aparentemente como consecuencia de la importación de aves de ornato infectadas, fue erradicado tres años después (55,64). El primer reporte de la enfermedad en nuestro país data de 1946, cuando Olvera da a conocer la muerte de 300,000 aves en el Valle de México comprobando que la epizootia provino de Estados Unidos a causa de la importación rutinaria de pollitos de un día de edad (13,57), el hallazgo y diagnóstico posterior fueron confirmados por Bankowski y Velásquez, así como por Camargo y Tellez Girón (13). En aquel momento se determinó que los signos correspondían a un tipo pantotrópico, al que pertenecen los ocasionados por algunas cepas asiáticas velogénicas viscerotrópicas que provocan una infección aguda en aves de todas las edades, con alta mortalidad y como característica patológica principal lesiones hemorrágicas en el tracto digestivo. En 1950-51 se manifiesta una segunda epizootia a partir de aves introducidas de

Inglaterra por el puerto de Tampico, con lo que empiezan a verse manifestaciones del tipo Doyle, Ramírez Valenzuela determina que es la forma enzoótica que predomina actualmente en nuestro país; la relación de signos y lesiones fue descrita ampliamente por Cuadra en 1962. En 1970 surge una tercera epizootia con un posible origen en aves exóticas provenientes de América del Sur, es reportada ampliamente por Lucio y Antillón en 1973, coincidiendo en sus resultados con los reportados por Cuadra en 1962 y Olvera en 1948 (13,55,57).

La infección es ocasionada por un virus ARN del género Paramixovirus de la familia Paramixoviridae, se reconocen nueve serotipos de virus parainfluenza pero sólo el serotipo I esta relacionado con esta enfermedad, contemplándose como prototipo de los paramixovirus aviáres, el genoma está formado por una sola molécula en sentido negativo (ARN de cadena sencilla) de 18 a 20 Kb., normalmente tiene forma pleomórfica filamentosa ó bien redondeada, la envoltura externa deriva de la membrana celular del huésped, tiene un diámetro de 120 a 180 nm, posee una envoltura lipídica doble con peplómeros glucoproteicos que rodea una nucleocápside con geometría helicoidal de 12 a 18 nm, existen dos tipos de glucoproteínas en la envoltura con diferentes funciones: La de fusión regulada por una proteína F (Fusión); la de Hemoaglutinina y Neuraminidasa mediada por las proteínas HN (Hemoaglutinina, Neuraminidasa), la proteína HN permite la fijación del virus a células con receptores, para permitir después la elución de las mismas; la proteína F colabora también en la fijación del virus, además hace posible la fusión célula-célula, permitiendo que la infección se difunda sin necesidad de que el virus salga del citoplasma celular e incluso en presencia de anticuerpos, se ha discutido ampliamente la constitución molecular de la proteína F y el grado de su desdoblamiento por parte de proteasas de la célula huésped, sobre la variabilidad de la patogenicidad en las distintas cepas virales, sin dilucidar aún el origen real de tal variación (4,5,10,20,36).

El VENC se cultiva adecuadamente en fibroblastos de embrión de pollo, donde llega a producir sincitios y corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticos; hemoaglutina glóbulos rojos de ave a temperatura ambiente y hace elución después de treinta minutos, esta habilidad se debe

a la actividad de la proteína HA del virus sobre receptores de superficie en los glóbulos rojos, esta propiedad y la inhibición de la aglutinación efectuada por un antisero específico proporciona una valiosa ayuda en el diagnóstico de la enfermedad; además de aglutinar glóbulos rojos de aves, todas las cepas pueden causar la aglutinación de glóbulos rojos de humanos, anfibios, reptiles, ratones, cuyes, y solo algunas cepas lo pueden hacer con glóbulos rojos de bovinos, cabras, ovejas, cerdos y caballos (4,5,20,62,63).

Se transmite principalmente en forma horizontal por inhalación o ingestión, vía aérea y oral, por secreciones nasales, oculares y excretas, mediante contacto directo con portadores, agua, alimento contaminado y aerosoles, aunque controversial no se descarta la posibilidad de transmisión de cepas lentogénicas a través del huevo (4,5,10).

El periodo de incubación del virus es de 2-15 días con un promedio de 5-6, la velocidad con la que aparecen los signos y el grado de patogenicidad es variable dependiendo de la cepa viral infectante, dosis, vía de entrada, especie huésped, estado inmunitario, estado nutricional, edad de las aves, infección con otros microorganismos y condiciones ambientales (5,20,36).

La patogenia del virus se inicia con una primer réplica viral en el epitelio del tracto respiratorio superior, en la glándula de Harder y en la mucosa intestinal, posteriormente por ser un virus linfotrópico llega a placas de Peyer y tonsilas cecales, más tarde alcanza sistema circulatorio donde realiza una segunda réplica en endotelio vascular, hígado, bazo y timo, se presenta un periodo transitorio de viremia, durante el cual se distribuye a distintos órganos, como cerebro y aparato reproductor (4,5,20).

La ENC es una zoonosis, en el hombre el periodo de incubación dura de 1 a 2 días, llegando a prolongarse hasta cuatro, generalmente ocasiona conjuntivitis unilateral, con congestión, lagrimeo, dolor y tumefacción de los tejidos subconjuntivales, los ganglios preauriculares llegan a encontrarse afectados, las reacciones sistémicas son raras, en algunos casos se ha observado infección generalizada por 3 ó 4 días con una sintomatología similar a la de la influenza, con ligera elevación de la temperatura, escalofríos y faringitis, el hombre es susceptible a todos los patotipos del virus, incluidos los de las cepas lentogénicas de las

vacunas (2,20,36).

Se ha reportado una relación existente entre las distintas cepas y el tiempo que tardan en matar al embrión de pollo de nueve a once días de edad, después de la inoculación por cavidad alantoidea, clasificándose como: velogénicas (menos de 60 hrs), mesogénicas (de 60 a 90 hrs) y lentogénicas (más de 90 hrs), las entéricas asintomáticas no logran matar al EP, se presentan respectivamente en las aves infectadas cuadros de alta, mediana, baja y nula virulencia (5,11,20,36).

Existe una división de los tipos de presentación basada en los signos clínicos y el tipo de cepa que los ocasiona, se determina que una presentación tipo **Doyle** es una infección aguda y letal de aves de todas las edades, ocasionada por cepas **velogénicas** como las cepas **Querétaro**, **Chimalhuacán**, **C.U.**, **Milano** y **Herts '33** (4,5,13). Se dividen a la vez en:

-Viscerotrópicas: Altamente patógenas, afectan principalmente el tracto digestivo, con lesiones hemorrágicas, la forma asiática de la ENC pertenece a esta clasificación (5,30,56).

-Neurotrópicas: Altamente patógenas, afectan principalmente el tracto respiratorio y el nervioso, corresponden a la presentación tipo **Beach** la cual es de curso agudo, frecuentemente letal para aves de todas las edades, en donde se observan signos **neurológicos** y **respiratorios**, ocasionados por cepas **velogénicas neurotrópicas** tipo cepa **Texas GB** (4,5,10).

La presentación tipo **Beaudette** es de baja patogenicidad, las muertes observadas son usualmente de aves jóvenes, es ocasionada por cepas **mesogénicas** que producen **signología** respiratoria y en algunas ocasiones nerviosa, llegan afectar al sistema reproductor, pertenecen a este tipo las cepas **Roakin**, **Haifa-Komarov**, **Krananveld**, **Cepa H** y **Mukteswar** (4,5,10,20)

La presentación tipo **Hitchner** se caracteriza por una infección con signos respiratorios poco aparentes y subclínicos, dentro de este tipo de presentación se hallan las cepas **lentogénicas** **F** (**Asplin**), **Hitchner B1**, **La Sota** y **Clon 30**, frecuentemente empleadas como vacunas a virus activo (4,5,9,10,24)

La presentación **entérica asintomática** se manifiesta por producir una infección respiratoria y entérica de tipo subclínico, existiendo cepas tipificadas como la **Ulster 2C**, **V4**.

Queensland y la VG/GA aislada recientemente de pavos en Georgia, probablemente las vacunas a virus activo del futuro (5,11,50).

La ENC en aves jóvenes generalmente se presenta en forma aguda, llegando a ocasionar súbitamente la muerte, en ausencia de signos y lesiones aparentes, mientras que en aves de mayor edad se manifiestan signos respiratorios como disnea, estertor traqueal, estertor bronquial, conjuntivitis, descarga nasal y ocular, signos digestivos como diarrea, y nerviosos como parálisis de algún miembro, bradistótonos, opistótonos, epistótonos, torticolis y movimientos tónico-clónicos en la fase final de la infección (5,20).

En aves de postura se observa frecuentemente signología respiratoria y puede manifestarse una fuerte y súbita caída de la producción de huevo, aunada a una baja o nula mortalidad (5,20,36).

Al igual que los signos clínicos, las lesiones y los órganos afectados por el VENC son variables, dependiendo del tipo de cepa viral, estado inmunitario, edad del ave y otros factores que pueden afectar la severidad de la infección, no existen lesiones patognomónicas asociadas con algún tipo particular de la enfermedad, incluso pueden estar ausentes algunas lesiones macroscópicas importantes (5,10,30). Sin embargo la presencia de lesiones hemorrágicas en el intestino de aves infectadas puede ser útil para distinguir virus velogénicos viscerotrópicos de virus velogénicos neurotrópicos, algunas de estas lesiones son particularmente prominentes en el proventrículo, ciego e intestino delgado, siendo marcadamente hemorrágicas, debido a la necrosis de tejido linfoide como placas de Peyer y tonsilas cecales (5,13,30,56).

En el caso de patotipos neurotrópicos las lesiones macroscópicas no son tan evidentes. En el tracto respiratorio no siempre se encuentran presentes los cambios patológicos macroscópicos, pero cuando se observan predominan lesiones hemorrágicas con una marcada congestión de la tráquea, puede existir aerosaculitis, sobre todo después de la infección con cepas mesogénicas, en ese caso se observan los sacos aéreos engrosados y con exudado catarral o caseoso (4,5,20).

Los cambios histopatológicos son variables, en el sistema vascular se observa hiperemia,

edema y hemorragia, en vasos de algunos órganos, puede existir degeneración hidrópica de la capa media, hialinización de capilares y arteriolas, trombosis hialinas en pequeños vasos, y necrosis del endotelio vascular (5,20).

En el bazo se observan lesiones necróticas, vacuolización focal y al igual que en el timo existe destrucción de linfocitos en el área cortical y germinal, en la bolsa de Fabricio se nota una marcada degeneración de la región medular, las lesiones necróticas hemorrágicas observadas en el intestino están presentes en el tejido linfóide. A lo largo del tracto respiratorio y dependiendo de la severidad de la infección se observa pérdida de cilios, congestión y edema, en los pulmones existe hiperemia, edema y hemorragias del área alveolar de los parabrónquios (1,5,24).

Se han visto pequeñas áreas de necrosis en el hígado, y hemorragias en vesícula biliar y corazón. En encéfalo se observa infiltración linfocitaria perivasculosa y las lesiones conjuntivales están asociadas con hemorragias (5,13,20,36).

La ENC se diagnostica comúnmente en el campo, mediante la observación de signos y lesiones a la necropsia, sin embargo el diagnóstico definitivo se logra con el aislamiento del virus en embrión de pollo a partir de muestras de aves sospechosas, como secreciones oronasales, isopos cloacales, y de órganos como: tráquea, pulmón, sacos aéreos, cerebro, bazo, hígado, intestino, corazón, riñones y médula ósea. Para confirmar el aislamiento se realizan pruebas serológicas de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación a partir del líquido alantoideo (5,20,31,36).

Una vez confirmado el aislamiento se deben realizar pruebas de patogenicidad para determinar la virulencia del virus, algunas de ellas son la determinación del tiempo medio para producir la muerte en el embrión de pollo, el índice de patogenicidad intracerebral o el endovenoso en pollos, esto es importante debido a que la amplia distribución del virus y la vacunación con virus activo, hace necesario comprobar que la cepa aislada corresponde al virus de campo (5,20). La prueba de inmunofluorescencia directa llega a emplearse para demostrar la presencia del virus en tejidos de aves infectadas (3,5,20).

El diagnóstico serológico se realiza demostrando una seroconversión positiva en por lo menos cuatro diluciones, en el suero de la fase convaleciente de la enfermedad, sobre la basal calculada anteriormente a partir del suero de la fase aguda, por medio de las pruebas de Virus Suero Neutralización (VSN), E.L.I.S.A. (Enzime-linked immunosorbent assay) e Inhibición de la Hemoaglutinación (IH), está última de extremado valor práctico (5,6,20,21,23,29). Estas pruebas son una alternativa real utilizada por los clínicos, tanto en la confirmación de diagnósticos, como para monitoreos de rutina, sin embargo, deben emplearse con precaución, debido a que si no se interpretan correctamente pueden conducir a un diagnóstico equivocado (5,23).

En el tracto respiratorio e intestinal de aves infectadas existe una respuesta inmune local contra el VENC, en estos tejidos se ha detectado inmunoglobulina A y alguna inmunoglobulina G (IgA e IgG) que pueden ser derivadas de la glándula de Harder y de la respuesta linfocitaria local, la IgG puede encontrarse en exudados traqueales debido al trasudado serológico como resultado del daño causado por el VENC en la tráquea (1,5,20,42), el papel de la respuesta local inmune no es muy claro, pero parece que a nivel de tracto respiratorio actúa como primera línea de defensa contra la entrada del virus (2,3,4,5,31,42,46,65).

La respuesta inmune mediada por células parece ser la responsable para la protección temprana observada en aves después de la vacunación, aún antes de que los anticuerpos contra el virus puedan ser detectados, sin embargo, su papel en la resistencia contra la enfermedad no es muy claro (5,44,51), estos dos tipos de inmunidad juegan un importante papel en la protección contra el VENC, aún cuando en términos prácticos no se han logrado cuantificar de forma satisfactoria, la respuesta inmune humoral puede ser detectada 5 ó 7 días después de la infección (5,21,45,58), utilizándose para evaluar la respuesta a un programa de inmunización, donde normalmente se realiza la titulación de anticuerpos en el suero de aves inmunizadas, ya que estos títulos determinan el grado de protección del organismo ante una infección por VENC de campo (5,6,9,12,23,41,53,57).

La ENC en nuestro país es enzoótica y de reporte obligatorio, solo los estados de Sonora y

Sinaloa se encuentran libres de la ENC en su patotipo velogénico viscerotrópico, el resto del país se encuentra en fase de erradicación (28), dentro del control que se lleva a cabo las medidas de bioseguridad son necesarias, pero insuficientes, por lo cual se recomienda la inmunización con vacunas de diferente principio, como vacunas a virus activo y vacunas emulsionadas que contengan virus inactivado, las cuales antigénicamente son muy estables, además no existe una diferencia antigénica relevante respecto a las diferentes cepas existentes en el mundo, debido a las características particulares del VENC (5,10,25,26,34,48,67).

Se han desarrollado un buen número de vacunas, todas con la finalidad de lograr la erradicación en forma primaria del patotipo velogénico viscerotrópico, su utilización permitió la erradicación de este patotipo en algunas partes del mundo, como el Sur de California y buena parte de los Estados Unidos (56,64).

La manera de administrar las vacunas a virus activo a variado a través del tiempo y de las investigaciones, actualmente se recomienda la utilización de gota más gruesa en la aspersión respecto al uso de microgota, ya que ésta provoca problemas respiratorios más severos (9,10,24,27,45,58,59,60,61,64,), en la aplicación individual por vía ocular se observan buenos resultados, mientras que la utilización de vacuna vía oral a través del agua de bebida, reporta niveles aceptables (27,39,41)

Debe tomarse en cuenta que las diferentes vacunas utilizadas varían ampliamente en su potencia; anteriormente se pensaba que una vacuna a virus activo era mejor en la medida de las reacciones postvacunales que provocaba, sin embargo esto ocasionaba pérdidas debido a la mortalidad y las complicaciones, como la enfermedad crónica respiratoria y la colibacilosis. Actualmente se recomienda la utilización de cepas virales más benignas, en combinación con vacunas emulsionadas, aplicadas antes de utilizar vacunas elaboradas a base de cepas virales más agresivas (5,18,32,34,40,45,61), esto en razón de que una vacuna a virus vivo aplicada por un método masivo de vacunación como la aspersión o vía oral, provoca una respuesta inmune local, que aunada a la respuesta humoral inducida por la vacuna emulsionada, ayuda a proteger de una manera más integral al ave ante el desafío con un virus de campo de alta patogenicidad

(5,18,25).

En algunos sitios donde la enfermedad se halla en forma enzoótica y constituye un peligro constante para las parvadas, algunos investigadores recomiendan la vacunación al día de edad, otros entre el día 8 y 14, dependiendo del nivel de anticuerpos maternos (8,15,40,39), debido a que en condiciones de inmunidad maternal alta, la utilización de una vacuna antes de la segunda semana de vida puede ocasionar interferencia, causando una neutralización de la misma y predisponiendo a una susceptibilidad mayor en este periodo (7,8,14,39), que en condiciones normales es crítico para el sistema inmune del ave, ya que durante el mismo la inmunidad del ave se encuentra comprometida, este periodo va del día 5-7 cuando termina la inmunidad pasiva, al día 21-28 donde el ave posee ya un sistema inmune a nivel competente, como para responder adecuadamente a una inmunización (40,52).

Es importante hacer un monitoreo de anticuerpos maternos contra el VENC, para conocer cuando es el momento propicio de la vacunación, en caso de tener un alto coeficiente de variación del perfil serológico de anticuerpos maternos en la parvada, algunos autores recomiendan una vacunación masiva vía aerosol a temprana edad con un virus de cepa lentogénica (14,38), aplicando además en forma simultánea vacunas inactivadas emulsionadas en adyuvantes de aceite mineral (fase acuosa-oleosa), o bien de hidróxido de aluminio (14,15,40,48), regularmente son de excelente calidad y alta seguridad, estimulando una fuerte y persistente producción de anticuerpos, que proporcionan un periodo mayor de protección en relación al uso único de vacunas con virus lentogénico, la vía de aplicación de las vacunas emulsionadas es subcutánea en el tercio medio posterior del cuello, y se recomiendan además cuando la enfermedad crónica respiratoria es un problema, debido a que su aplicación no causa el mismo estrés que ocasiona la utilización de vacunas con virus activo (9,15,18,34,47).

Las vacunas emulsionadas están elaboradas a base de virus activo altamente antigénico pero de baja patogenicidad con un título mayor a 10^8 DIEP 50%/ml, proveniente de líquido alantoideo que contiene al virus en una proporción del 25%, esto se debe a que la potencia de la vacuna inactivada dependerá de la cantidad de proteína viral que contiene, el virus activo es

inactivado con formaldehído o betapropiolactona, con la finalidad de evitar la multiplicación viral dentro del ave (5,18,22,38,48), se encuentra suspendido en aceite de origen mineral en combinación con un emulsificante que actúa como estabilizador, formando una solución acuosa-oleosa, el objetivo de esta combinación con el adjuvante es evitar la eliminación inmediata del antígeno, provocando una respuesta inflamatoria prolongada que involucra al sistema inmune en una alta producción de anticuerpos y de respuesta celular, a través del procesamiento antigénico del sistema fagocítico mononuclear (22,38,48,49,52).

Existen diferencias en la finalidad zootécnica y edad de las aves al momento de aplicar las vacunas emulsionadas, lo que está directamente relacionado con el grado de inmunidad materna y zona en donde se realiza la inmunización (15,38), bajo estas condiciones existe una amplia variedad de vacunas y programas de inmunización; con la finalidad de obtener el calendario de vacunación más adecuado para cada granja en particular, se recomienda evaluarlos continuamente con pruebas serológicas y en algunos casos especiales a través de pruebas de desafío, utilizando cepas conocidas de alta patogenicidad bajo condiciones controladas en laboratorios de alta seguridad (41,47,48).

En relación a una adecuada inmunización deberá contemplarse además la concentración, volumen, tipo de virus vacunal, tipo de emulsión, vía de aplicación, edad de las aves, equipo utilizado y sobre todo la capacitación que tenga el vacunador, ya que la eficacia de las vacunas puede verse afectada por la calidad con la cual son administradas, aún cuando exista alguna posible diferencia antigénica del virus vacunal o de la elaboración del mismo (10,22,25,27,48,55,57).

La utilización de vacunas emulsionadas hiperconcentradas (0.1 ml) equivalen a tener la misma concentración viral contenida en 0.3 ml y 0.5 ml de vacuna por dosis, minimizando el estrés posvacunal sobre todo en pollos infectados con *Mycoplasma* sp., facilitan su aplicación en la incubadora al día de edad utilizándose los vacunadores automáticos destinados a la vacunación contra Marek, la supervisión de la aplicación es más factible, reducen el costo de mano de obra, permiten que el pollo se recupere del estrés mientras permanece en la sala de

reposito, en algunas ocasiones podría ser el único manejo que recibiera el ave, esta ventaja debe ser aprovechada en el pollo de engorda para establecer una protección temprana, por lo que se requiere la utilización óptima de vacuna emulsionada a esta edad, bajo programas adecuados de inmunización con cepas lentogénicas, sin olvidar las características particulares de cada explotación, para evitar en consecuencia reacciones postvacunales severas ó bien un constante estrés de las aves que afecte en forma detrimental los principales parámetros productivos.

A pesar de las aparentes desventajas de la vacunación individual como son el costo de la mano de obra, la aplicación de la vacuna a virus activo por vía ocular y la inyección subcutánea de vacuna emulsionada, en nuestro país, aún es redituable y adecuada (25,27,57), recomendándose su utilización para evitar posibles brotes del VENC de campo del patotipo mesogénico y velogénico viscerotrópico, con la finalidad de obtener un control adecuado de la ENC con miras a la erradicación (18,25,27,54,57,61,64).

HIPOTESIS

-La utilización en calendarios de inmunización recomendados por diferentes laboratorios en el campo, de una vacuna emulsionada subcutánea con un volumen de 0.1 ml, 0.3 ml, y 0.5 ml, por dosis respectivamente, es igual de eficiente en la seroconversión y ante la respuesta a un desafío con una cepa altamente patógena del VENC, sin afectar los principales parámetros productivos.

OBJETIVOS

-Determinar la protección y medir la seroconversión contra la ENC del calendario de vacunación recomendado actualmente por algunos laboratorios con la aplicación simultánea de virus activo via ocular y una vacuna emulsionada (ALFA 0.1 ml por dosis) respecto a dos vacunas emulsionadas de diferente volumen (BETA 0.3 ml por dosis, GAMMA 0.5 ml por dosis), con revacunación posterior de vacuna activa via oral.

MATERIAL Y METODOS

Animales de experimentación: Se utilizaron 5 grupos de pollo de engorda (Arbor Acres x Arbor Acres) de un día de edad procedentes de una incubadora comercial, cada grupo se dividió en machos y hembras, que fueron alojados en una caseta de ambiente natural en las instalaciones de una empresa comercial ubicada en el municipio de Villa del Carbón, Edo. de México, localizado a los 19° 43' 30" de latitud norte y a los 99° 28' de longitud oeste a una altura de 2480 msnm, de clima templado subhúmedo (Cs), con una temperatura promedio de 20° C. y una precipitación pluvial anual de 700 a 900 ml.

Se seleccionó un grupo de 80 aves como testigos sin vacunar los cuales fueron alojados en una unidad de aislamiento. Los pollos se alimentaron bajo un programa de restricción alimenticia, diseñado para controlar la presentación de Síndrome Ascítico con alimento comercial y agua *ad libitum* (37,43).

Prueba Serológica de Inhibición de la Hemoaglutinación (IH): Se realizó la técnica de IH, por medio del método beta descrito por Cuningham (17), utilizando antígeno del VENC inactivado, el cual fué titulado por Hemoaglutinación (HA) para calcular la dilución requerida y

obtener 10 unidades hemoaglutinantes (UHA), se utilizaron glóbulos rojos al 0.5 % obtenidos de aves de 12 semanas de edad, los cuales fueron lavados por cuatro ocasiones con Solución Salina Fisiológica (SSF), y resuspendidos en Solución Fosfatada Bufurada (PBS), para la mejor conservación de los eritrocitos se agregó 2 % de Citrato de Sodio, en las diluciones se utilizó PBS en microplacas de 96 pozos, con microdiluidores de 50 Microlitros (MI) realizando diluciones dobles seriadas, iniciando con una dilución 1:2 (41,62,63), y obteniendo títulos individuales expresados por grupo en forma de títulos geométricos medios (TGM) Logaritmo base 2 (Log_2) de acuerdo a Brugh (16,23).

Vacunas y Métodos de administración: Se aplicaron tres vacunas emulsionadas obtenidas de distintos Laboratorios con volúmenes diferentes ALFA (0.1 ml), BETA (0.3 ml), y GAMMA (0.5 ml), inyectadas en forma subcutánea (jeringa Ultramatic 3 ml con aguja del 22 x 1/4) en el tercio medio posterior del cuello, como lo describe Levy (34) bajo los diferentes programas de inmunización; para la primer vacunación con virus activo se utilizó la cepa Hitchner B1 obtenida de un mismo lote (Laboratorio BETA), con un título de $10^{8.5}$ Dosis Infectante Embrión de Pollo (DIEP) 50 % / ml, junto con vacuna a virus activo de Bronquitis Infecciosa cepa Massachusett-Conncticut, misma que fue aplicada vía Ocular (0.03 ml) (39,42,54), y por Aspersión (0.5 ml/ave) con la máquina vacunadora (Spra-vac) según lo descrito por Villegas (58,59,60), lo cual se hizo dependiendo del programa de inmunización.

Para la revacunación con virus activo se utilizó la cepa La Sota de un mismo lote (Laboratorio BETA) con un título de 10^8 DIEP 50%/ ml, vía oral a través del agua de bebida en dosis de 0.5 ml por ave (27,39,40).

Cepa de desafío del VENC: Para la realización del desafío se inoculó vía intramuscular en el músculo pectoral de las aves, 0.2 ml de líquido alantoideo conteniendo virus de una cepa del patotipo velogénico viscerotrópico de la ENC (cepa Chimalhuacán), aislada en el Departamento de Producción Animal: Aves, de la Fac. de Med. Vet. y Zoot.; de la U.N.A.M. con un título de 10^6 Dosis Infectante Embrión de Pollo (DIEP) 50 % ml, titulada en embrión de pollo libre de patógenos específicos (LPE) (25,34,55).

Diseño Experimental: Se formaron 5 grupos de aves en forma aleatoria, cada uno de los grupos fué distribuido en una caseta de ambiente natural, para recibir un programa de inmunización de acuerdo al siguiente diseño:

Grupo A: Se vacunaron 7,494 aves bajo el siguiente calendario de inmunización recomendado por el laboratorio ALFA:

Vacuna	Edad en días	Vía
ALFA 0.1 ml/por dosis (emulsionada)	1	Subcutánea
ENC Hitchner B1 BETA	8	Ocular
ENC Lasota BETA	21	Oral

Grupo B: Se vacunaron 7,492 aves bajo el siguiente calendario de inmunización recomendado por el laboratorio ALFA:

Vacuna	Edad en día	Vía
ALFA 0.1 ml/por dosis (emulsionada)	8	Subcutánea
ENC Hitchner B1 BETA	10	Ocular
ENC Lasota BETA	28	Oral

Grupo C: Se vacunaron 7,450 aves bajo el siguiente calendario de inmunización recomendado por el laboratorio ALFA:

Vacuna	Edad en días	Vía
ALFA 0.1 ml/por dosis (emulsionada)	1	Subcutánea
ENC Hitchner B1 BETA	1	Aspersión
ENC Lasota BETA	21	Oral

Grupo D: Se vacunaron 7,470 aves bajo el siguiente calendario de inmunización recomendado por el laboratorio BETA:

Vacuna	Edad en días	Vía
BETA 0.3 ml/por dosis (emulsionada)	1	Subcutánea
ENC Hitchner B1 BETA	1	Aspersión
ENC Lasota BETA	21	Oral

Grupo E: Se vacunaron 7,478 aves bajo el siguiente calendario de inmunización recomendado por el laboratorio GAMMA:

Vacuna	Edad en días	Via
GAMMA 0.5 ml/por dosis (emulsionada)	8	Subcutánea
ENC Hitchner B1 BETA	10	Ocular
ENC La Sota BETA	28	Oral

Se contempló además la formación de 2 grupos sin inmunizar un grupo testigo positivo que se desafió y otro grupo testigo negativo sin desafiar.

Evaluación de la prueba: a partir del día 1 de edad, y en forma semanal hasta el día 56, fecha de salida al mercado, se obtuvieron 15 muestras de suero de cada uno de los grupos vacunados en el campo, para realizar IH individual de la ENC para la obtención del TGM (16,23).

Se realizaron desafíos con la cepa de alta patogenicidad de la ENC (cepa Chimalhuacán) a 45 aves por grupo, con tres repeticiones de 15 aves cada una, procedentes de las casetas de ambiente natural, las cuales fueron alojadas en las unidades de aislamiento de el Departamento de Producción Animal: Aves de la Fac. de Med. Vet. y Zoot.; de la U.N.A.M. donde se mantuvieron en condiciones de alimentación e iluminación controladas.

Con la finalidad de observar el nivel de protección al día recomendado para la revacunación con la cepa La Sota, por los tres laboratorios elaboradores de las tres diferentes vacunas emulsionadas, al día 21 de edad se desafiaron los grupos A, C y D, posteriormente al día 28 de edad se desafiaron los grupos B y E.

Para evaluar la capacidad de las vacunas emulsionadas en inducir anticuerpos persistentes, a los 56 días de edad fecha de salida al mercado, se desafiaron todos los grupos.

En cada uno de los desafíos se incluyó un grupo testigo positivo de 15 aves susceptibles sin programa de inmunización, se tomaron muestras de suero de todas las aves antes del desafío y a las aves sobrevivientes después del mismo, los desafíos consistieron en dos periodos, uno de adaptación cinco días predesafío y otro de observación quince días postdesafío, en el transcurso

Grupo E: Se vacunaron 7,478 aves bajo el siguiente calendario de inmunización recomendado por el laboratorio GAMMA:

Vacuna	Edad en días	Vía
GAMMA 0.5 ml/por dosis (emulsionada)	8	Subcutánea
ENC Hitchner B1 BETA	10	Ocular
ENC La Sota BETA	28	Oral

Se contempló además la formación de 2 grupos sin inmunizar un grupo testigo positivo que se desafió y otro grupo testigo negativo sin desafiar.

Evaluación de la prueba: a partir del día 1 de edad, y en forma semanal hasta el día 56, fecha de salida al mercado, se obtuvieron 15 muestras de suero de cada uno de los grupos vacunados en el campo, para realizar IH individual de la ENC para la obtención del TGM (16,23).

Se realizaron desafíos con la cepa de alta patogenicidad de la ENC (cepa Chimalhuacán) a 45 aves por grupo, con tres repeticiones de 15 aves cada una, procedentes de las casetas de ambiente natural, las cuales fueron alojadas en las unidades de aislamiento de el Departamento de Producción Animal: Aves de la Fac. de Med. Vet. y Zoot.; de la U.N.A.M. donde se mantuvieron en condiciones de alimentación e iluminación controladas.

Con la finalidad de observar el nivel de protección al día recomendado para la revacunación con la cepa La Sota, por los tres laboratorios elaboradores de las tres diferentes vacunas emulsionadas, al día 21 de edad se desafiaron los grupos A, C y D, posteriormente al día 28 de edad se desafiaron los grupos B y E.

Para evaluar la capacidad de las vacunas emulsionadas en inducir anticuerpos persistentes, a los 56 días de edad fecha de salida al mercado, se desafiaron todos los grupos.

En cada uno de los desafíos se incluyó un grupo testigo positivo de 15 aves susceptibles sin programa de inmunización, se tomaron muestras de suero de todas las aves antes del desafío y a las aves sobrevivientes después del mismo, los desafíos consistieron en dos periodos, uno de adaptación cinco días predesafío y otro de observación quince días postdesafío, en el transcurso

del cual las muertes ocurridas fueron recopiladas diariamente, a todas las aves muertas se les hizo la necropsia dentro de la unidad, para posteriormente bajo condiciones controladas (doble baño, a la entrada y salida de la unidad, doble cambio de overol, tapetes sanitarios, doble bolsa de desecho y horno de incineración) proceder a su eliminación (40,41).

Todas las aves vivas que mostraron signología nerviosa o lesiones típicas sugestivas a ENC fueron consideradas sensibles al desafío e incluidas en la mortalidad, las aves sobrevivientes fueron sacrificadas por dislocación cervical, se realizó la necropsia individual para valorar las lesiones sugerentes al VENC cepa velogénica viscerotrópica (47,48).

Se evaluaron los principales parámetros productivos de las aves alojadas en las casetas de ambiente natural, tales como Índice de Productividad, Conversión Alimenticia, Consumo de Alimento, Ganancia Diaria de Peso y Mortalidad (18,37,43,54).

Análisis Estadístico: Se utilizó análisis de varianza para determinar diferencias estadísticas de los TGM de IH entre los distintos grupos de los calendarios de inmunización, así como entre los grupos tratados sometidos a desafío, se determinó un nivel de significancia de $p < 0.05$ para el análisis comparativo.

Las diferencias estadísticas entre las medias se evaluaron mediante la prueba de Tukey utilizándose el paquete estadístico SAS (23,35), para valorar las diferencias significativas entre TGM predesafío y postdesafío, se utilizó la prueba "t" de Student a través del paquete estadístico PLOT-40.

Se empleó análisis de Ji-cuadrada para evaluar la tasa de mortalidad entre los grupos desafiados (23,66).

RESULTADOS

La respuesta serológica a la inmunización con una vacuna emulsionada de diferente volumen en el campo fue variable, como se aprecia en el Cuadro 1 y Figura 1, donde se presentan los TGM de los 5 grupos A, B, C, D y E, vacunados en las casetas de ambiente natural bajo diferentes programas de inmunización, el grupo A, presenta un TGM de 6.21 Log_2 al día de edad de manera idéntica al resto de los grupos; el TGM del grupo A es igual al título del grupo E, que a su vez difiere significativamente ($p < 0.05$) del grupo D, el TGM 2.42 Log_2 del grupo C, se encuentra por debajo de este nivel, compartiendo esta posición con el título del grupo B, que no es estadísticamente diferente ($p > 0.05$) al grupo A y E, pero sí al grupo D ($p < 0.05$) (Cuadro 1).

En los sueros-muestra obtenidos a los 14 días de edad de todos los grupos alojados en las casetas de ambiente natural, se observa una disminución general de los títulos, notándose que el grupo D y E mantienen un nivel semejante, difiriendo significativamente del resto de los grupos (Gráfica 1), el grupo C con un TGM de 1.53 Log_2 a esta edad se ubica en el nivel más bajo de los grupos, el grupo A y B, presentan un TGM semejante pero por debajo del nivel de los grupos D y E, de quienes difieren significativamente (Cuadro 1), a esta edad ningún grupo posee un TGM protectorio.

A los 21 días de edad los títulos se mantienen bajos, observándose que el TGM 1.06 Log_2 del grupo C, es el más bajo obtenido a lo largo de toda la evaluación, además de diferir significativamente del resto de los grupos (Cuadro 1, Figura 1), el grupo E vacunado con la vacuna emulsionada GAMMA a los 8 días de edad y dos días después con la cepa B1 vía ocular, tiene un TGM de 3.13 Log_2 observándose un aumento respecto al TGM encontrado en el mismo grupo a los 14 días que fue el más bajo a lo largo de la evaluación, los grupos A, B y D, tienen a esta fecha un título semejante, con un aumento respecto a los TGM obtenidos al día 14 de edad, aunque se observa una diferencia negativa respecto al grupo E, encontrándose sin embargo por encima del grupo C, a los 21 días de edad en ningún grupo se observaron TGM que se considerarán protectores a un posible brote de campo.

Al día 28 de edad se observa en el Cuadro 1 que el grupo D (TGM 4.60 Log₂) y E (TGM 4.06 Log₂) tienen ya un título protectorio, difiriendo significativamente ($p < 0.05$) de los grupos A, B y C, donde se utilizó la vacuna ALFA en la primera semana de edad, el TGM del grupo C (1.60 Log₂) (Cuadro 1) tiende a subir una semana después de la revacunación con la cepa La Sota, respecto al observado al día 21, sin embargo aún se mantiene bajo respecto al resto de los grupos a excepción del grupo B (Figura 1).

Dos semanas después de la revacunación con la cepa La Sota a los 35 días, los grupos A, B y C obtuvieron títulos protectivos de forma repentina, respecto a los que tenían una semana antes, el TGM del grupo B aunque no difirió del resto de los grupos si fue el de menor nivel, en el TGM del grupo E se observa una elevación siete días después de la vacunación con La Sota, aunque a partir del día 21 se advierte un ascenso de los mismos en forma gradual, para llegar a un pico serológico al día 42, que además es el TGM más alto de todos los grupos (Figura 1) difiriendo significativamente del grupo A y B; aunque los grupos C y D no difieren del grupo E, tampoco difieren del resto de los grupos, observándose un ascenso gradual con respecto a los títulos obtenidos una semana antes, sin embargo el TGM del grupo A empieza a decrecer respecto al obtenido al día 35 de edad, el grupo B mantiene un título equilibrado de acuerdo al obtenido 7 días antes.

A los 49 días de edad el grupo A con un TGM de 4.93 Log₂ (Cuadro 1) es el menor (Figura 1), difiriendo significativamente ($p < 0.05$) de los grupos C, D y E, el grupo B alcanza su pico serológico, manifestando ser el único que conserva un incremento en relación a los títulos obtenidos al día 42 en el resto de los grupos, el grupo D conserva un TGM idéntico al obtenido a la sexta semana de edad, manteniendo un nivel más elevado que el conseguido por el resto de los grupos, el grupo C comienza a decrecer gradualmente, difiriendo significativamente del grupo A; los TGM del grupo E al igual que los del grupo A y C, empiezan a bajar, sin embargo todos los grupos mantienen títulos considerados protectores.

A la octava semana fecha de salida al mercado, todos los grupos conservan niveles adecuados de TGM protectivos, el grupo C con un TGM de 4.80 Log₂ difiere

significativamente de los grupos A y D, además de poseer el nivel más bajo se encuentra cercano al título mínimo de protección, el grupo A tiene un TGM más alto que el de los demás grupos, encontrándose aumentado en relación al obtenido por el mismo grupo, al día 42 y 49 de edad, sin embargo es menor al obtenido el día 35, observándose que es el único grupo que presenta una respuesta errática en los títulos de IH a lo largo de la evaluación, el grupo B al igual que el E no difieren de los grupos restantes, respecto a los títulos obtenidos una semana antes, el grupo D aunque decrece poco en el TGM respecto al de la semana anterior conserva un nivel más estable a lo largo de las 8 semanas de evaluación (Cuadro 1).

En el desafío realizado al día 21 de edad con una cepa de alta patogenicidad de los grupos A, C, D y testigo positivos, se obtuvieron TGM de dos sangrados, los cuales difirieron significativamente ($p < 0.05$) entre el TGM predesafío y el TGM postdesafío, observándose una fuerte respuesta serológica como consecuencia al desafío en las aves sobrevivientes (Cuadro 2) el grupo A inmunizado al día de edad con la vacuna emulsionada ALFA y revacunado al día ocho con la cepa B1, presentó un título de 2.87 Log_2 que difiere significativamente del presentado por el grupo C y el grupo testigo (Cuadro 2), seis días después del desafío comenzó la mortalidad que se mantuvo hasta el día doce, al final de la cual en el grupo A se observó 44.44 % de mortalidad (Figura 5).

En el grupo C inmunizado simultáneamente al día de edad con la vacuna emulsionada ALFA y la cepa B1 via ocular, se observó una mortalidad mayor (62.22 %) en relación a la del grupo A y D, aunque menor a la del grupo testigo que fue del 100 % considerando un criterio de calificación basado en la presencia de signología nerviosa y lesiones a la necropsia, el TGM predesafío del grupo C fue diferente al de los grupos A y D, pero semejante al del grupo testigo (Figura 2), el grupo D con un calendario de inmunización similar al del grupo C, pero con diferente vacuna emulsionada (BETA) presentó una mortalidad del 6.66 % (Cuadro 2) menor a la observada en los grupos A y C, además de ser altamente significativa ($p < 0.001$) respecto a la del grupo testigo.

Los TGM postdesafío de los tres grupos tratados difirieron significativamente de el título

presente en las aves sobrevivientes del grupo testigo; en los TGM obtenidos antes del desafío y los observados después del desafío en todos los grupos, se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) (Gráfica 2).

Después de las primeras muertes, en todos los grupos se manifestó un cuadro clínico con signología respiratoria y elevada morbilidad, donde se observaron estertores traqueales y bronquiales, acompañados de severa depresión, plumas erizadas, aves postradas y diarrea color verde esmeralda, posteriormente a los diez días postdesafío se observaron aves con torticolis, opistótonos, epistótonos, bradistótonos, incoordinación y parálisis de algún miembro posterior.

Las aves muertas presentaron lesiones típicas del VENC patotipo velogénico viscerotrópico tales como severa hiperemia traqueal, pulmonía de leve a moderada, petequias focales difusas en grasa coronaria, hemorragias severas con ulceraciones de moderadas a severas en la capa glandular del proventrículo, úlceras botonosas y necróticas en el intestino, úlceras hemorrágicas necróticas severas en tonsilas cecales, equimosis de leve a moderada en bolsa de Fabricio, y en unas cuantas aves iridociclitis, edema facial y conjuntivitis hemorrágica.

Las lesiones histopatológicas observadas fueron similares en todos los órganos remitidos para su estudio, en encéfalo y cerebelo se observó degeneración neuronal, neurofagia e infiltración linfocitaria perivascular, el hígado presentó necrosis focal y multifocal de los hepatocitos, en corazón pequeñas hemorragias y necrosis, en páncreas se encontró infiltración linfocitaria, en bazo degeneración de la capa linfocitaria medular y cortical, en proventrículo se observaron hemorragias y necrosis de la capa glandular, el intestino se observó hemorrágico y con necrosis, la tráquea presentó abundante infiltración linfocitaria y pérdida del epitelio superficial, en pulmones se observó una congestión de leve a moderada acompañada de edema.

El virus se logró aislar a partir de aves muertas en cada uno de los lotes desafiados, ocasionando la muerte en el embrión de pollo antes de las 48 hrs.

En el desafío realizado el día 28 se contemplaron los dos grupos restantes B y D, los que fueron inmunizados respectivamente con una vacuna emulsionada distinta (ALFA y GAMMA) al día 8 de edad, con una revacunación posterior de la cepa B1 al día 10, los TGM predesafío

de los dos grupos fueron altamente significativos en relación al título del testigo (Cuadro 3, Figura 3), además de presentar TGM protectivos, el grupo E tiene un ligero incremento del título respecto al grupo A, el cual al final de la prueba presentó una mortalidad del 6.66 % (Figura 5) un poco mayor que la presentada por el grupo E (4.44 %), en el grupo testigo comenzó haber mortalidad a partir del día cuatro hasta el día diez, posteriormente dos de las aves sobrevivientes presentaron signología nerviosa sugerente a ENC, al evaluar la prueba se consideraron como aves positivas, al igual que las aves que presentaron lesiones típicas de ENC, este grupo finalizó con un 100 % de mortalidad, presentando una diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) respecto a los grupos tratados (Cuadro 3).

Los TGM predesafo de todos los grupos presentaron una diferencia significativa respecto a los TGM postdesafo (Cuadro 3, Figura 3), lo que indica un proceso agudo de la ENC, las aves que murieron durante la prueba, presentaron lesiones semejantes a las descritas en el primer desafo, se obtuvo además el aislamiento viral de la cepa velógenica a partir de muestras de cada grupo.

El desafo a los 56 días incluyó a todos los grupos en evaluación, el grupo E presentó el título predesafo más alto, teniendo una diferencia significativa con los grupos B, D y Testigo, este último como era de esperarse con el TGM más bajo 1.0 Log_2 , difiriendo significativamente de todos los grupos tratados, el grupo A y C no tuvieron diferencias significativas con ninguno de los grupos a excepción del grupo testigo (Cuadro 4), que a su vez obtuvo un título postdesafo de 7.13 Log_2 el cual fue el más alto, los grupos A y E, mostraron los TGM postdesafo más bajos, pero sin diferir de los demás grupos, que a su vez difirieron únicamente respecto al grupo testigo (Figura 4), durante el transcurso de la prueba de los grupos tratados, solo en el grupo A, existió una mortalidad del 4.44 % a diferencia del resto de los grupos que no registraron una sola muerte (Figura 5), al momento de finalizar la prueba y en la evaluación de la misma, el grupo testigo presentó una mortalidad acumulada del 93.33 % manifestando ser, respecto a los grupos tratados altamente significativa ($p < 0.001$).

En los TGM predesafo de todos los grupos incluyendo el testigo, se observó una

diferencia estadística en relación a los títulos postdesafío obtenidos 15 días después (Figura 4).

Los principales parámetros productivos obtenidos de las aves alojadas en las casetas de ambiente natural, se analizaron de manera comparativa entre los distintos grupos tratados, ya que no se pudo inferir una diferencia estadística significativa directa entre los parámetros evaluados, o los porcentajes de mortalidad, debido a que los datos obtenidos están expresados directamente en medias; se obtuvieron datos completos hasta la octava semana de edad (Cuadro 5).

Se observó que los parámetros de todos los grupos tratados fueron parecidos, aunque se nota una leve diferencia, entre los grupos A, B y C respecto a los grupos D y E, por ejemplo se observó que el consumo de alimento por ave fue menor en el grupo E de 5.53 Kilogramos (Kg), y en el grupo D de 5.67 Kg, a diferencia de los tres primeros grupos vacunados con la vacuna emulsionada ALFA, en donde el consumo aumenta levemente (Cuadro 5), el peso por ave fue mayor en el grupo D y E, los tres primeros grupos presentaron un peso menor, la conversión alimenticia disminuye en el grupo D seguida del grupo E, los grupos A, B y C obtuvieron conversiones alimenticias mayores, al mismo tiempo la ganancia diaria de peso es menor respecto a la obtenida por los grupos D y E, que a su vez obtuvieron un pequeño margen superior en cuanto al índice de productividad (Cuadro 5), la mortalidad hasta el día 56 se mantuvo estable en todos los grupos, el grupo con mayor mortalidad fue el grupo A con 3.67 %, si bien el grupo D obtuvo una mortalidad de 3.39 %, el grupo C presentó a esta fecha una menor mortalidad, los grupos B y E presentaron una mortalidad similar (Cuadro 5).

En las dos últimas semanas debido al período de compensación alimenticia después de la restricción, se incrementaron los promedios de los parámetros productivos generales, aunque también se incrementó el porcentaje de mortalidad en todos los grupos (Cuadro 6 y 7), si bien no se puede inferir una diferencia estadística significativa entre los parámetros evaluados, si se pueden apreciar diferencias evidentes entre los grupos tratados.

DISCUSION

La evaluación de la respuesta serológica y el nivel de protección a un posible desafío de campo, con la inmunización de tres vacunas emulsionadas diferentes, aparentemente es difícil de realizar en forma satisfactoria, sobre todo para conocer la participación real de cada vacuna en esta respuesta, debido a la aplicación circunstancial y necesaria de cepas vacunales a virus activo (Cepas La Sota y B1), sin embargo a través de los esquemas de inmunización implementados, si se notan diferencias estadísticas significativas (Cuadro 1, Figura 5); las parvadas evaluadas mostraron un título de anticuerpos maternos alto debido a una inmunización regular de las reproductoras, lo que posiblemente repercute sobre la respuesta a la vacunación al día de edad, de acuerdo a lo reportado por Allan (7), Eidson et al (19) y Box (14,15) quienes observaron que es necesario conocer el nivel de anticuerpos maternos al día de edad para poder realizar la inmunización en el momento preciso.

Allan (8) y Partadiredja (39), han observado que en aves con títulos maternos altos, como en el caso de los cinco grupos inmunizados en el presente trabajo, por cualquier vía de aplicación del virus activo de la vacuna emulsionada, causa interferencia inmunogénica provocando una rápida pérdida de inmunidad pasiva, y consecuentemente una pobre o nula respuesta a la inmunización, a diferencia de aves que tienen un título maternal bajo, las cuales responden favorablemente a una vacunación temprana, siendo más refractarias a un desafío temprano con VENC respecto a las aves que presentan títulos maternos altos al momento de la vacunación, mismas que en un trabajo realizado por Allan (7) observó que poseen un nivel de protección menor.

En la evaluación serológica realizada a partir de sueros-muestra provenientes de la granja evaluada, se observa que el grupo A que recibió la vacuna emulsionada ALFA al día de edad, los anticuerpos maternos decaen aparentemente en forma natural sin posible influencia de la vacuna emulsionada, y eso es normal según Gómez y Lucio (25) quienes manifiestan que una vacuna emulsionada empieza a levantar títulos 28 días después de aplicada, aunque al día 8 con la vacunación vía ocular de la cepa B1, sus títulos se elevan un poco, sin embargo no fueron

capaces de proteger a las aves ante el desafío con la cepa altamente patógena donde se observó un nivel de protección unicamente de 55.56 %.

El grupo C presentó a su vez fallas en los títulos de protección ya que al día 21, fecha de revacunación vía oral con la cepa La Sota, donde se supone que una parvada adecuadamente inmunizada debe de poseer un nivel de protección arriba del 90 % (19,25) serológicamente no tenía títulos protectivos, además de tener los TGM más bajos de todos los grupos a lo largo de todo el periodo de muestreo, lo que repercutió en una elevada mortalidad al momento del desafío (Cuadro 4), mientras que el grupo D vacunado con un programa de inmunización similar, pero con diferente vacuna emulsionada (BETA) tiene un nivel de protección del 93.34 %.

Aparentemente en el grupo A, B y C, existe una falla postvacunal grave, ya que los TGM de las aves de campo, en los tres casos bajaron progresivamente, aunque si bien el TGM del grupo D es más bajo al momento del desafío, respecto al TGM del grupo A, respondió mejor a este, lo que nos lleva a considerar lo expresado por Varona (57) quien en un desafío realizado con pollitas de reemplazo observó que los TGM abajo de 5 Log₂ aunque aparentemente esten altos no llegan a proteger satisfactoriamente, al contrario de títulos más bajos que si lo llegan hacer, Phillips (41) concluyó que sólo arriba de 5 Log₂ los TGM de IH mantienen correlación con los niveles de protección al desafío con cepas patógenas; según lo mencionado por Alexander (04) por mucho tiempo se ha tomado que un TGM de 4 Log₂ protege, lo cual no es completamente cierto, ya que en el desafío a los 21 días existieron aves con este título ó más alto y aún así sucumbieron.

En la evaluación serológica de la granja, el grupo D obtuvo un nivel de anticuerpos más estable al transcurso del ciclo productivo, sólo por debajo del grupo E, que no se incluyó en el desafío a los 21 días, sin embargo en esta fecha es el que mejor título poseía; el grupo C tiene una respuesta desfavorable a la inmunización ya que sólo obtiene títulos protectores hasta el día 35, lo cual aparentemente se debe al efecto de la vacunación vía oral con cepa La Sota dos semanas antes, quizá como respuesta a un efecto postvacunal severo, que puede deberse a la

carencia de anticuerpos para amortiguar la fuerte respuesta ocasionada por la cepa La Sota (1,3,45), en esta misma situación se observa a los grupos A y B, que fueron a su vez inmunizados con la misma vacuna emulsionada (ALFA), la que aparentemente ocasionó esta falla vacunal, en contraposición al grupo D, que 28 días después de la inmunización con la vacuna emulsionada BETA tiene los títulos más altos inclusive por arriba del grupo E; una semana después de la revacunación con cepa La Sota el grupo A y B, tienen disminuidos los títulos respecto al grupo D, indicando una posible reacción a la vacunación con La Sota.

En el programa de inmunización similar del grupo B y E, inmunizados los dos a los 8 días con las vacunas ALFA y GAMMA respectivamente, se observa una completa disparidad de los títulos manteniendo diferencias estadísticas a lo largo del ciclo productivo, que según lo mencionado por Phillips (41) y Gómez (25) esta directamente relacionado con la respuesta serológica y nivel de protección, que induce la vacuna emulsionada utilizada en cada caso particular, ya que los dos grupos recibieron el mismo alimento, el mismo manejo y las mismas vacunas a virus activo; pudiendo inferir una diferencia tangible entre las dos vacunas.

Después del día 35 todos los grupos tienen títulos protectivos, aunque en el caso del grupo A y C, se explica debido a la respuesta vacunal con la cepa La Sota dos semanas antes, el grupo B una semana después de la vacunación con La Sota tiene un TGM aceptable, aunque una semana antes presentaba el título más bajo, no hay que olvidar que a esta edad las aves responden mejor a la inmunización, debido a que ya poseen un sistema inmune maduro, por lo que conforme crecen se hacen más refractarias a la infección del VENC (5,25,40,52).

Los títulos alcanzados por el grupo E son los más altos a lo largo de la evaluación, aunque los TGM del grupo D, revacunado con la cepa La Sota una semana antes del grupo E, son los que permanecen elevados por un periodo mayor, existiendo una diferencia relativa al día 56; el grupo E por el sistema de inmunización utilizado aunque con pequeñas modificaciones, vacuna emulsionada (0.5 ml) a los 8 días de edad y cepa B1 vía ocular al día 10, con revacunación vía oral con la cepa La Sota al día 28, Torres (54) y de la Rosa (18) lo consideran el programa de inmunización que con mayor frecuencia es utilizado en el país, fue el que mejor respuesta

serológica obtuvo a lo largo del ciclo productivo, en cuanto a TGM protectivos recomendados $< 5 \text{ Log}_2$, mismos que empezaron a decaer al día 42, sin embargo para la corta vida del pollo esto no es significativo, ya que a los 56 días de edad fecha de salida al mercado, conservaba un título aceptable.

El grupo D a pesar de tener una mortalidad del 6.66 % al día 21, es el grupo de mejor comportamiento al transcurso de la evaluación serológica, en este desafío los grupos A y C no resistieron adecuadamente, a pesar de contar ya con una aplicación de la cepa B1, que posiblemente haya marcado la diferencia entre la mortalidad del grupo C, que la recibió al día 1 cuando tenía un título alto de anticuerpos maternos, lo cual posiblemente provocó cierta interferencia, no olvidando que el desafío ocurrió 21 días después, cuando los TGM de este grupo se encontraban disminuidos, a diferencia del grupo A que la recibió al día 8 de edad, cuando tenía un título de anticuerpos maternos más bajo, que posiblemente le permitió cierta respuesta, aunque una respuesta de este tipo inducida por la B1 según Eidson (19) es más alta serológicamente que una inducida por La Sota, el observó sin embargo mayor mortalidad al día 21, con una mortalidad máxima de 25 %, a diferencia del grupo A del presente trabajo que fue de 44.44 %.

Esta diferencia se explica por una posible interferencia de la vacuna emulsionada, si no a nivel humoral, si a nivel de respuesta celular lo que está comprobado por Timms et al (51), Alexander (5) y Ramírez et al (44), que es la primera en actuar en las fases primarias de una infección un poco antes de la respuesta humoral, sin olvidar que Stone (48) menciona que las vacunas emulsionadas además de producir una respuesta humoral alta y prolongada, tienen una acción directa sobre la respuesta celular ocasionada en parte por el adyuvante a través de la respuesta inflamatoria; además Allan (8) menciona que al estar evaluando la vacuna emulsionada inyectada vía subcutánea, se debe contemplar que nuestro desafío fue realizado vía intramuscular, por lo que estamos evaluando réplica viral general, con lo que la B1 nos protegiera hasta cierto grado ya que su réplica es en epitelio tráqueal, nivel donde induce una respuesta adecuada.

En una investigación realizada por Aitken (3) explica que si bien la inmunidad local esta básicamente circunscrita a epitelio respiratorio, cuando llega a existir inflamación o lesiones provocadas por cepas lentogénicas, como las reportadas por Abdul-Aziz (1), puede existir un incremento del título en anticuerpos de origen humoral independientemente a los de origen local; la replicación viral se lleva a cabo a nivel de endotelios, los cuales si no conservan una adecuada inmunidad local (IgA e IgG secretora) no son capaces de resistir a la infección con una cepa patógena, hecho evidente en los grupos A, B y C, que al día 35 muestran un severo incremento de títulos de IH, después de la revacunación con la cepa La Sota, lo cual se explica en parte porque independientemente de su agresividad, existen antecedentes de una inadecuada vacunación con la vacuna emulsionada ALFA y la cepa B1.

En el desafío a los 28 días, el grupo B aunque tenía un título predesafío aparentemente adecuado (Cuadro 3), tiene una mortalidad mayor a la del grupo E, que posiblemente se deba a una diferencia en respuesta inmune mediada por células a la infección con la cepa patógena, respuesta inducida adecuadamente por la vacuna emulsionada GAMMA, ya que la respuesta humoral en ambos grupos aparentemente se encuentra inducida por la vacunación al día 10 con la cepa B1, donde al disminuir la inmunidad materna el ave respondió adecuadamente a la inmunización, en los TGM del grupo B observados en la granja se aprecia que se hallan por debajo del grupo E, presentándose como posible causa la respuesta provocada por la vacuna emulsionada que en el caso del grupo B, es inadecuada.

En el desafío al día 56, fecha de salida a mercado donde es necesario evaluar la eficacia inmunogénica de las vacunas emulsionadas, respecto a la proporcionada por vacunas a virus activo, se observó que únicamente el grupo A presentó mortalidad, el resto mantuvo un 100 % de protección en relación al testigo, afectado con un 93.33 % de mortalidad, los títulos predesafío de los grupos desafiados al día 56 se encontraban disminuidos respecto a los del desafío al día 28; en relación a los TGM obtenidos de la granja, si bien existen diferencias entre los mismos, estas se deben a la técnica de IH; en un trabajo de Phillips (41) demarca una variabilidad de $\pm 1 \text{ Log}_2$ en los mismos, siempre y cuando el antígeno se encuentre bien

En una investigación realizada por Aitken (3) explica que si bien la inmunidad local esta básicamente circunscrita a epitelio respiratorio, cuando llega a existir inflamación o lesiones provocadas por cepas lentogénicas, como las reportadas por Abdul-Aziz (1), puede existir un incremento del título en anticuerpos de origen humoral independientemente a los de origen local; la replicación viral se lleva a cabo a nivel de endotelios, los cuales si no conservan una adecuada inmunidad local (IgA e IgG secretora) no son capaces de resistir a la infección con una cepa patógena, hecho evidente en los grupos A, B y C, que al día 35 muestran un severo incremento de títulos de IH, después de la revacunación con la cepa La Sota, lo cual se explica en parte porque independientemente de su agresividad, existen antecedentes de una inadecuada vacunación con la vacuna emulsionada ALFA y la cepa B1.

En el desafío a los 28 días, el grupo B aunque tenía un título predesafío aparentemente adecuado (Cuadro 3), tiene una mortalidad mayor a la del grupo E, que posiblemente se deba a una diferencia en respuesta inmune mediada por células a la infección con la cepa patógena, respuesta inducida adecuadamente por la vacuna emulsionada GAMMA, ya que la respuesta humoral en ambos grupos aparentemente se encuentra inducida por la vacunación al día 10 con la cepa B1, donde al disminuir la inmunidad materna el ave respondió adecuadamente a la inmunización, en los TGM del grupo B observados en la granja se aprecia que se hallan por debajo del grupo E, presentándose como posible causa la respuesta provocada por la vacuna emulsionada que en el caso del grupo B, es inadecuada.

En el desafío al día 56, fecha de salida a mercado donde es necesario evaluar la eficacia inmunogénica de las vacunas emulsionadas, respecto a la proporcionada por vacunas a virus activo, se observó que únicamente el grupo A presentó mortalidad, el resto mantuvo un 100 % de protección en relación al testigo, afectado con un 93.33 % de mortalidad, los títulos predesafío de los grupos desafiados al día 56 se encontraban disminuidos respecto a los del desafío al día 28; en relación a los TGM obtenidos de la granja, si bien existen diferencias entre los mismos, estas se deben a la técnica de IH; en un trabajo de Phillips (41) demarca una variabilidad de $\pm 1 \cdot \text{Log}_2$ en los mismos, siempre y cuando el antígeno se encuentre bien

titulado, por lo cual los datos de granja corresponden a los observados en los desafíos.

En una investigación realizada por Gómez y Lucio (25) donde probaron una vacuna emulsionada sola (0.2 ml) con un 25 % de antígeno al día edad, obtuvieron niveles de protección de 65 % a los 21 días, la utilización simultánea de vacuna emulsionada con 25 % de antígeno y la cepa La Sota fué la que mejores resultados ofreció, sin embargo se observaron complicaciones postvacunales, se probó además una vacuna emulsionada sin antígeno pero combinada con La Sota por aspersión al día de edad, obteniendo porcentajes de protección del 100 % a los 21 días, aunque el título bajo rápidamente después de ese día, lo interesante es que la vacuna emulsionada sin antígeno presentó este porcentaje de protección, aunque esto debe atribuirse a la utilización de La Sota, lo que indica que no necesariamente se produce interferencia vacunal con la utilización de vacunas emulsionadas al primer día de edad, aún cuando el nivel de respuesta no está directamente relacionado con el porcentaje de inclusión de líquido alantoideo en la vacuna emulsionada antes de su inactivación.

Según lo descrito por León et al (33) y Stone et al (48), quienes no hallaron diferencias entre el porcentaje de inclusión de líquido alantoideo en la vacuna emulsionada respecto al porcentaje de protección, únicamente en la capacidad de aumentar ó disminuir los títulos IH de anticuerpos séricos en proporción a la inclusión del antígeno, tampoco observaron diferencias en el tipo de emulsión ó en la fase de presentación, simple (acuosa-oleosa) y múltiple (acuosa-oleosa-acuosa) de la vacuna emulsionada, aunque debe tenerse en cuenta que las condiciones de laboratorio son diferentes a las de campo respecto a la aplicación de la vacuna; sin embargo en trabajos como el realizado por de la Rosa (18) se observaron algunas ventajas de utilizar una vacuna emulsionada hiperconcentrada (0.2 ml) simultáneamente con la cepa B1 sobre la respuesta favorable a un desafío y sobre la obtención de mejores parámetros productivos, aunque se notó una breve desprotección durante las tres primeras semanas, con un programa semejante al del grupo C y D difiriendo únicamente del C, pero con ventaja sobre un programa semejante al grupo B y E difiriendo respecto a los dos, que obtuvieron protección hasta la cuarta semana, a diferencia del grupo B que no la obtuvo y del grupo E que en el presente

trabajo obtuvo mejores resultados en esa fecha.

Torres (54) reporta las ventajas de aplicar un programa tipo Europeo de inmunización semejante al programa del grupo D, encontrando pequeñas diferencias positivas respecto a un programa tradicional como el del grupo E, en un desafío a los 46 días de edad encontró un 100 % de protección, similar a los grupos B, C, D y E durante el desafío a los 56 días; sin embargo en el desafío realizado a los 21 días del grupo D, que sería el correspondiente al recomendado por Torres, sólo se obtuvo un porcentaje de protección del 93.34 %, a diferencia de lo sustentado en aquel trabajo, donde se reportan títulos protectivos desde la segunda semana, que aquí solo se obtuvieron a partir de la cuarta, si bien pueden existir diferencias de la respuesta a la vacunación en este programa debido a diferentes títulos maternos según lo descrito por Allan (7,8) no se descarta la posibilidad de una falla al momento de aplicar la vacuna emulsionada, sin olvidar lo indicado por Peterson (40) y Tizard (52) en el sentido que el ave al primer día aún no responde favorablemente a la vacunación debido a lo inmaduro de su sistema inmunocompetente.

En un trabajo realizado por Gervasio (22) con vacunas emulsionadas de baja inclusión en el porcentaje total de líquido alantoideo, observó un adecuado nivel de protección; a diferencia del grupo C, donde se observa una evidente falla de la misma, que puede explicarse por el volumen mínimo de aplicación (0.1 ml) permitiendo que exista mayor nivel de riesgo al momento de la inyección, en condiciones de granja se observó que algunas aves después de inyectadas, la vacuna emulsionada escurria por la laceración ocasionada en la piel por la aguja al momento de aplicación, debido probablemente al inadecuado grosor de la misma ó bien al tipo de emulsión utilizado en la vacuna, en este caso lo que puede ser una ventaja en la utilización moderna de vacunas emulsionadas de fase múltiple (agua-aceite-agua) para obtener menor viscosidad, a este volumen (0.1 ml) puede ocasionar fallas al momento de aplicar la vacuna, o bien existir interferencia vacunal con un título mediano de anticuerpos maternos, que ocasionaría un desgaste pronunciado de los mismos, quedando una cantidad mínima de antígeno, insuficiente para iniciar una respuesta inmune primaria adecuada, la cantidad de

antígeno presente en la vacuna, por lo tanto esta relacionada a la vez con el tipo de emulsión utilizada para la elaboración de la vacuna, lo cual es determinante para producir una respuesta adecuada, en un reporte de Borrego et al (13) se observó que la principal causa de brotes de campo de VENC velogénico viscerotrópico fue una inadecuada aplicación de la vacuna; por lo que existen evidencias que permiten vislumbrar una posible falla al momento de la aplicación de la vacuna ALFA debido a la utilización de equipo inadecuado, ya que se utilizaron jeringas con agujas no apropiadas para la inmunización con volúmenes tan pequeños, como los utilizados para la vacuna ALFA (0.1 ml), ya que si este equipo se utiliza para la aplicación de vacunas de mayor volumen BETA (0.3 ml) ó GAMMA (0.5 ml), si se produjera la laceración ocasionando la salida de la vacuna, por el volumen utilizado que es mayor, sería posible aún que permaneciera una parte de la misma en cantidad suficiente, como para iniciar una respuesta inmune adecuada, ya que se ha reportado que con el equipo adecuado es posible aplicar cantidades de 0.1 ml a 0.2 ml, en la incubadora después de la vacunación contra la Enfermedad de Marek con múltiples ventajas (18).

Por otra parte aunque existen trabajos como los de Allan (10) donde sugiere que no existen diferencias antigénicas importantes entre las diversas cepas vacunales de la ENC, aquí debe hacerse notar que la vacuna ALFA al igual que la BETA son de origen Europeo; en una investigación realizada por Guzmán (26) no encontró diferencias significativas entre dos vacunas emulsionadas elaboradas con antígeno europeo y una elaborada con antígeno americano, en este trabajo resalta la importancia de la calidad del equipo vacunal y la capacitación del vacunador, sobre alguna posible variación antigénica existente entre las vacunas emulsionadas utilizadas (4,5,27).

Se observó que debido al sistema de restricción alimenticia los parámetros de todos los grupos tratados, aunque parecidos son bajos e inadecuados para pollo de engorda a esta edad, según lo recomendado por Quintana y North (43,37), aún cuando en las dos últimas semanas debido al periodo de compensación alimenticia después de la restricción, se incrementaron los promedios de los parámetros productivos generales, se incrementó también el porcentaje de

mortalidad debido a la ascitis que se presentó en todos los grupos tratados.

Aunque en pequeña magnitud, los parámetros productivos en general fueron favorables para el grupo D y E, la ventaja sobre los grupos A, B y C, es evidente, posiblemente más que al estrés ocasionado por los vacunadores o al manejo de restricción alimenticia, se debieron al estrés ocasionado por la respuesta a la revacunación con la cepa La Sota, ya que el grupo C vacunado simultáneamente al día de edad, igual que el grupo D, no padecieron este estrés debido al manejo para la vacunación al día 8-10, pero al igual que el grupo A y B, al no contar con una inmunidad humoral adecuada necesaria para amortiguar las reacciones postvacunales de la cepa La Sota, tuvieron una consecuente disminución de los principales parámetros productivos, por lo que se perdieron algunas ventajas de la vacunación al primer día, en el caso del grupo A y C, éstas diferencias fueron evidentes a pesar del sistema de restricción alimenticia aplicado.

El programa de vacunación recomendado para el grupo D es adecuado, con el inconveniente del bajo nivel de protección inducido al día 21, el programa más recomendable sin embargo sigue siendo el indicado para el grupo E, la variación en el calendario de aplicación para el grupo A no se pudo valorar adecuadamente, debido a la falla del programa con la vacuna ALFA, lo mismo sucedió para los grupos C y B, no se puede concluir si es mejor o no disminuir el volumen de aplicación, ya que en presente trabajo existieron variables sin controlar al momento de aplicar la vacuna ALFA, que no permiten elaborar un juicio adecuado acerca de su efectividad, es necesario volver a valorar esta vacuna con un diseño experimental más cerrado donde las variables se controlen de mejor manera, por lo cual se concluye, que un sistema de inmunización es adecuado en la medida que se contemplen y resuelvan de mejor manera las variables existentes, ya que la mejor defensa de las parvadas consistirá en el conocimiento de estas variables y de su efecto sobre el programa de inmunización de una granja en particular; variables como: la uniformidad de anticuerpos maternos en las parvadas jóvenes, la calidad de elaboración de las vacunas y sus componentes, tales como: el grado de antigenicidad de la semilla maestra de cada una de las vacunas utilizadas, la calidad de los

mortalidad debido a la ascitis que se presento en todos los grupos tratados.

Aunque en pequeña magnitud, los parámetros productivos en general fueron favorables para el grupo D y E, la ventaja sobre los grupos A, B y C, es evidente, posiblemente más que al estrés ocasionado por los vacunadores o al manejo de restricción alimenticia, se debieron al estrés ocasionado por la respuesta a la revacunación con la cepa La Sota, ya que el grupo C vacunado simultáneamente al día de edad, igual que el grupo D, no padecieron este estrés debido al manejo para la vacunación al día 8-10, pero al igual que el grupo A y B, al no contar con una inmunidad humoral adecuada necesaria para amortiguar las reacciones postvacunales de la cepa La Sota, tuvieron una consecuente disminución de los principales parámetros productivos, por lo que se perdieron algunas ventajas de la vacunación al primer día, en el caso del grupo A y C, éstas diferencias fueron evidentes a pesar del sistema de restricción alimenticia aplicado.

El programa de vacunación recomendado para el grupo D es adecuado, con el inconveniente del bajo nivel de protección inducido al día 21, el programa más recomendable sin embargo sigue siendo el indicado para el grupo E, la variación en el calendario de aplicación para el grupo A no se pudo valorar adecuadamente, debido a la falla del programa con la vacuna ALFA, lo mismo sucedió para los grupos C y B, no se puede concluir si es mejor o no disminuir el volumen de aplicación, ya que en presente trabajo existieron variables sin controlar al momento de aplicar la vacuna ALFA, que no permiten elaborar un juicio adecuado acerca de su efectividad, es necesario volver a valorar esta vacuna con un diseño experimental más cerrado donde las variables se controlen de mejor manera, por lo cual se concluye, que un sistema de inmunización es adecuado en la medida que se contemplen y resuelvan de mejor manera las variables existentes, ya que la mejor defensa de las parvadas consistirá en el conocimiento de estas variables y de su efecto sobre el programa de inmunización de una granja en particular; variables como: la uniformidad de anticuerpos maternos en las parvadas jóvenes, la calidad de elaboración de las vacunas y sus componentes, tales como: el grado de antigenicidad de la semilla maestra de cada una de las vacunas utilizadas, la calidad de los

adjuvantes y emulsificantes, la cantidad óptima de aplicación, el equipo adecuado para la aplicación adecuada y una pertinente instrucción de los vacunadores, además de la utilización de pruebas de laboratorio que auxilien a dilucidar el momento y la mejor vía para la inmunización; debiéndose contemplar antes que nada las medidas de bioseguridad y su aplicación real, todo ello encaminado a evitar posibles brotes de ENC en el campo, ya que en vías de la erradicación y dentro de lo posible la mejor vacuna es la que no se aplica.

LITERATURA CITADA

01.- Abdul-Aziz, T.A. and Arp, L.H.: Pathology of the trachea in turkeys exposed by aerosol to lentogenic strains of Newcastle disease virus. Avian Dis. 27:1002-1011 (1983)

02.- Acha, P.N. y Szyfres, B.: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Segunda edición. Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C., E.U.A. 1992.

03.- Aitken, I.D. and Parry, S.H.: Local immunity in the respiratory tract of the chicken. I. Transudation of circulating antibody in normal and virus-infected birds. Immunology 31:33-37 (1976)

04.- Alexander, D.J.: Avian paramixoviruses. The Vet. Bull. 50:737-750 (1980)

05.- Alexander, D.J.: Newcastle disease and other paramixovirus infections. In: Diseases of Poultry. Edited by Calnek, B.W., Barnes H.J., Beard C.W., Raid, W.M. and Yoder, H.W. 9 th Ed. pp 496-513. Iowa State University Press, Ames Iowa. U.S.A. 1991.

06.- Allan, W.H. and Gough, R.E.: A comparison between the haemagglutination inhibition and complement fixation tests for Newcastle disease. Res. in Vet. Sci. 20:101-103 (1976)

07.- Allan, W.H.: The effect of neonatal vaccination against Newcastle disease in the presence of maternal antibody. Vet. Rec. 93:645-646 (1973)

08.- Allan, W.H.: Vaccination against Newcastle disease with an inactivated oil emulsion vaccine at day-old followed by aerosol application of La Sota vaccine at three weeks. Vet. Rec. 95:54 (1974)

09.- Allan, W.H. and Borland, L.J.: A comparison of the immune response and respiratory stress effect of three clone sizes of virus and three ranges of aerosol particle size using the lentogenic Newcastle disease vaccine strain AG68L. Avian Pathol. 9:153-162 (1980)

10.- Allan, W.H.: The problem of Newcastle disease. Nature 234:128-132 (1971)

11.- Avellaneda, G. y Villegas, P.: Control de Newcastle en pollos de engorde. Avicultura Profesional 3:118-122 (1994)

- 12.- Borland, L.J. and Allan W.H.: Laboratory tests for comparing live lentogenic Newcastle disease vaccines. Avian Pathol. 9:45-59 (1980)
- 13.- Borrego, E.J.L., Urquiza, B.O., Merino, B.J. y Soto, P.E.: 1989 y la presencia de virus velogénico viscerotrópico de la Enfermedad de Newcastle en el Valle de México. Memorias de la XV Convención Anual ANECA. Cancun, Q. Roo Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. (1990)
- 14.- Box, P.G.: The influence of maternal antibody on vaccination against Newcastle disease. Vet. Rec. 77:246-250 (1965)
- 15.- Box, P.G. and Furringer, I.G.S.: Newcastle disease antibody levels in chickens after vaccination with oil emulsion adjuvant killed vaccine. Vet. Rec. 96:108-111 (1975)
- 16.- Brugh, J.M.: A simple method for recording and analyzing serological data. Avian Dis. 22:362-365 (1978)
- 17.- Cuningham, Ch. H.: Virología Práctica. 6a. edición, ed. Acribia. Zaragoza, España. 1971.
- 18.- De la Rosa, C., Ramírez, H., Arias, J., Rodríguez, M. y Soto, L.: Inmunización a Pollitos de un día de edad contra Newcastle utilizando vacuna inactivada con Betapropiolactona hiperconcentrada emulsionada y virus activo cepa B1. Memorias de la XVI Convención Anual ANECA. Puerto Vallarta, Jal. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas (1989)
- 19.- Eidson, C.S., Kleven, S.H. and Villegas P.: Efficacy of intratracheal administration of Newcastle disease vaccine in day-old chicks. Poultry Science 55:1252-1267
- 20.- Fenner, F., Bachmann, P.A., et al.: Virología Veterinaria. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. 1992.
- 21.- Gassman, R. and Von Rautenfeld, D.B.: Detection of antibody in transparent fluids of semen and in serum after inoculation of Newcastle disease vaccines by different routes. Avian Pathol. 6:235-240 (1977)
- 22.- Gervacio, L.E.: Evaluación de dos vacunas emulsionadas contra la enfermedad de

Newcastle (ENC) por medio de la respuesta sérica y la protección al desafío, Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1985)

23.- Giambrone, J.J.: Laboratory evaluation of Newcastle disease vaccination programs for broiler chickens. Avian Dis. 29:479-487 (1985)

24.- Goldhaff, T.M.: Guest editorial historical note on the origin of the la sota strain of Newcastle disease virus. Avian Dis. 24:297-302 (1980)

25.- Gómez, D.M. y Lucio, M.B.: Vacunación contra enfermedad de Newcastle en pollitos de un día de edad con aspersión de virus vivo, con virus muerto emulsionado a ambos. Avirama 2:13-19 (1986)

26.- Guzmán, E. y Perdomo, E.M.: Comportamiento en reproductoras de las vacunas oleosas contra Newcastle: Experiencias en Colombia. Avicultura Profesional 2:15-17 (1984)

27.- Glisson, J.R.: Técnicas de vacunación. Avirama 3:19-26 (1993)

28.- Heneidi, Z.A.: Programa epidemiológico para la erradicación de salmonelosis aviar y enfermedad de Newcastle en su presentación Velogénica Viscerotrópica en el estado de Sinaloa. Memorias de la XVIII Convención Anual ANECA. Puerto Vallarta, Jal. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas (1993)

29.- Hanson, R.P. and Spalatin, J.: Thermostability of the hemagglutinin of Newcastle disease virus as a strain marker in epizootologic studies. Avian Dis. 22:659-665 (1978)

30.- Hanson, R.P., Spalatin, J. and Jacobson G.S.: The viscerotropic pathotype of Newcastle disease virus. Avian Dis. 17:354-361 (1973)

31.- King, D.J.: Virus isolation from tracheal explant cultures and oropharyngeal swabs in attempts to detect persistent Newcastle disease virus infections in chickens. Avian Dis. 29: 297-311 (1985)

32.- Kleven, S.H., Eidsorn, C.S. and Fletcher, O.J.: Airsacculitis induced in broilers with a combination of *Mycoplasma gallinarum* and respiratory viruses. Avian Dis. 22:707-716 (1978)

33.- León, P.F., Quintana, L.J.A. y Lucio, M.B.: Vacunación con virus vivo y muerto

emulsionado contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorda al día de edad; efecto de la cantidad de antígeno en la emulsión. *Memorias de la IV Jornada Avícola*. México, D.F. Departamento de Producción Animal: Aves, FMVZ, UNAM. (1993)

34.- Levy R. and Zakay-Rones Z.: Immunization of chicken with an inactivated oil-adjuvant Newcastle disease virus vaccine. Avian Dis. 17:598-604 (1973)

35.- Lugin Duke, R.C. and Schlotzhauer, S.D.: SAS / STAT guide for personal computers. 6 th. ed. SAS Institute, Cary, N.C. pp 555-573, 1987.

36.- Mohanty, S.B. y Dutta, S.K.: Virología Veterinaria. Interamericana S.A. de C.V. México D.F. 1983.

37.- North, M.O.: Commercial Chicken Production Manual 3a. ed., The Avi Publishing Company Inc., Westport Connecticut. E.U.A. 1984.

38.- Partadiredja, M., Eidson, C.S. and Kleven, S.H.: Immunization of broiler breeder chickens against Newcastle disease with an oil-emulsion vaccine. Avian Dis. 23:597-607 (1978)

39.- Partadiredja, M., Eidson, C.S. and Kleven, S.H.: A comparison of immune responses of broiler chickens to different methods of vaccination against Newcastle disease. Avian Dis. 23:622-633 (1978)

40.- Peterson, E.H.: A Guide for Avian Disease Control. Compliments of American Soybean Association, St. Louis, M.O. U.S.A. 1984.

41.- Phillips, J.M.: Vaccination against Newcastle disease: an assessment of haemagglutination inhibition titres obtained from field samples. Vet. Rec. 93:577-583 (1973)

42.- Powell, J.R., Aitken, I.D. and Survashe, B.D.: The response of the harderian gland of the fowl to antigen given by the ocular route II. Antibody production. Avian Pathol. 8: 363-373 (1979)

43.- Quintana, J.A.: Avitecnia. Manejo de las aves domésticas más comunes. 2a. ed. Trillas. México D.F. 1991.

44.- Ramírez, V.G., Retana, R.A., Téllez, I.G., Gómez, D.M. y Senties C.G.: Evaluación del Factor de Transferencia en la Vacunación contra la Enfermedad de Newcastle en pollos de

engorda. Memorias de la XIV Convención Anual ANECA. Puerto Vallarta, Jal. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. (1989)

45.- Samderg, Y., Hornstein, K., Cuperstein, E. and Gottfried, R.: Spray vaccination of chickens with an experimental vaccine against Newcastle disease. Avian Pathol. 6:251-258 (1977)

46.- Spanoghe, L., Peeters, J.E., Cotlear, J.C., Devos, A.H. and Viaene, N.: Kinetics of serum and local haemagglutination inhibition antibodies in chicks following vaccination and experimental infection with Newcastle disease virus and their relation with immunity. Avian Pathol. 6:101-109 (1977)

47.- Stone, H.D. Brugh, M., Erickson, G.A. and Beard, C.W.: Evaluation of inactivated Newcastle disease oil-emulsion vaccines. Avian Dis. 24:99-11 (1974)

48.- Stone, H.D., Brugh, M. and Beard, C.W.: Influence of formulation on the efficacy of experimental oil-emulsion Newcastle disease vaccines. Avian Dis. 27:688-697 (1983)

49.- Stone, H.D., Brugh, M., Hopkins, S.R., Yoder, H.W. and Beard, C.W.: Preparation of inactivated oil-emulsion vaccines with avian viral or *Mycoplasma* antigens. Avian Dis. 22:666-676 (1978)

50.- Spradbrow, P.B., Ibrahim, A.L., Mustafa-Babjee, A. and Kim, S.J.: Use of an avirulent Australian strain of Newcastle disease virus as a vaccine. Avian Dis. 22:329-335 (1978)

51.- Timms, L. and Alexander, D.J.: Cell-mediated immune response of chickens to Newcastle disease vaccines. Avian Pathol. 6:51-59 (1977)

52.- Tizard, I.: Inmunología Veterinaria. 3a. ed, Interamericana S.A de C. V. México, D.F. 1987.

53.- Thornton, D.H., Hopkins, I.G. and Hebert, C.N.: Potency of live Newcastle disease vaccines. Avian Pathol. 9:457-464 (1980)

54.- Torres, M.: Comportamiento de una vacuna emulsionada administrada al primer día de edad a una dosis de 0.3 ml / ave, Memorias de la V Jornada Avícola. México, D.F.

Departamento de Producción Animal: Aves, FMVZ, UNAM. (1995)

55.- Urquiza, B.O.: Eficacia de una vacuna emulsionada concentrada experimental contra la enfermedad de Newcastle (ENC) en pollos de engorda de diez días de edad. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1986)

56.- Utterback, W.W. and Shwartz, J.H.: Epizootiology of vologenic viscerotropic Newcastle disease in Southern California, 1971-1973. J Am Vet Med Assoc. 163:1080-1090 (1974)

57.- Varona, B.J.A.: Evaluación inmunológica de las vacunas emulsionadas comerciales contra la enfermedad de Newcastle, Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1986)

58.- Villegas, P., Anderson, D.P., Kleven, S.H. and Vezey, S.A.: Aerosol vaccination against Newcastle disease. III. Field experiments in broiler chickens. Avian Dis. 21:16-25 (1976)

59.- Villegas, P. and Kleven, S.H.: Aerosol vaccination against Newcastle disease I. Studies on particle size. Avian Dis. 20:179-190 (1976)

60.- Villegas, P. and Kleven, S.H.: Aerosol vaccination against Newcastle disease II. Effect of vaccine diluents. Avian Dis. 20:260-267 (1976)

61.- Villegas, P., Kleven, S.H. and Anderson, D.P.: Effect of route of Newcastle disease vaccination on the incidence of airsacculitis in chickens infected with *Mycoplasma synoviae*. Avian Dis. 20:395-400 (1976)

62.- Villegas, P.: Microtécnica para las pruebas de hemaglutinación (HA) e inhibición de la hemaglutinación (HI). Avicultura Profesional 1:84-85 (1983)

63.- Villegas, P.: Equipo y reactivos para técnicas serológicas. Avicultura Profesional 2:63-64 (1983)

64.- Walker, J.W., Heron, B.R. and Mixson, M.A.: Exotic Newcastle disease eradication program in the United States. Avian Dis. 17:486-503 (1973)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

65.- Yadin, H.: Aerosol vaccination against Newcastle disease: virus inhalation and retention during vaccination. Avian Pathol. 9:163-170 (1980)

66.- Zar, J.: Biostatistical analysis. 2nd. ed. ed. Prentice Hall Inc. Englewood Cliffs New jersey, pp 348-351 (1984)

67.- Zavaleta, D. y Lucio, M.B.: Estabilidad de las vacunas a virus activo contra la enfermedad de Newcastle elaboradas en México. Avirama 2:4-6 (1987)

CUADRO 1. Título Geométrico Medio de anticuerpos en la prueba de IH-ENC, a partir de sueros obtenidos semanalmente de casetas de ambiente natural, en grupos de pollo de engorda vacunados a distintas edades postvacunación bajo diferentes programas de inmunización.

Grupos	Día 01*	Día 07	Día 14	Día 21	Día 28	Día 35	Día 42	Día 49	Día 56
A	6.21 ± 1.76 a	3.25 ± 0.82 b	2.15 ± 1.20 b	2.40 ± 1.35 b	2.26 ± 1.83 b	6.06 ± 1.27 a	5.20 ± 0.86 b	4.93 ± 0.96 b	5.86 ± 1.50 a
B	6.21 ± 1.76 a	2.75 ± 1.06 bc	2.11 ± 1.32 b	2.13 ± 0.51 b	1.53 ± 0.63 b	5.26 ± 0.88 a	5.26 ± 0.45 b	5.40 ± 0.82 ab	5.33 ± 1.29 ab
C	6.21 ± 1.76 a	2.42 ± 1.25 c	1.53 ± 1.03 c	1.06 ± 0.54 c	1.60 ± 1.18 b	5.66 ± 1.75 a	5.73 ± 1.03 ab	5.70 ± 1.48 a	4.90 ± 0.94 b
D	6.21 ± 1.76 a	4.72 ± 0.93 a	2.80 ± 1.25 a	2.06 ± 0.79 b	4.60 ± 1.54 a	5.73 ± 0.59 a	5.93 ± 0.59 ab	5.93 ± 0.59 a	5.80 ± 0.94 a
E	6.21 ± 1.76 a	3.23 ± 1.07 b	2.96 ± 0.62 a	3.13 ± 0.83 a	4.06 ± 0.96 a	6.00 ± 1.19 a	6.13 ± 1.40 a	5.60 ± 0.48 a	5.20 ± 1.20 ab

* Valores expresados en medias ± desviación estándar de los títulos geométricos medios Log_2 10 UHA, obtenidos de 15 aves por grupo.

** Medias con diferente literal en la misma columna, son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

Cuadro 2. Desafío a los 21 días de edad con la cepa Chimalhuacán del VENC, fecha de revacunación de los grupos A, C y D, vacunados al día de edad con dos vacunas emulsionadas diferentes, simultáneamente con la cepa B1 del VENC, en el caso del grupo A esta se realizó al día 8 de edad.

Lote	Título Predesafío	Título Postdesafío	% de Mortalidad
A1	2.5377 *	8.0000 *	43.75
A2	3.3315	7.4679	40.00
A3	2.7424	7.5390	46.66
Grupo A	2.8705 a **	7.6689 a	44.44 a ***
C1	1.9030	7.8488	56.25
C2	1.7888	6.8795	73.33
C3	2.5003	7.2376	66.66
Grupo C	2.0640 b	7.3219 a	62.22 b
D1	3.1940	6.2597	6.66
D2	2.4507	7.9182	13.33
D3	2.7617	7.6412	0.00
Grupo D	2.8021 a	7.2730 a	6.66 a
Grupo Testigo Positivo	2.28 b	7.29 b	100.00 c

* Valores expresados en títulos geométricos medios $\text{Log}_2 10$ UHA, que corresponden a 45 sueros por grupo y 15 por réplica, obtenidos antes del desafío y quince días después.

** Títulos geométricos medios en la misma columna con diferente literal, son estadísticamente significativos: ($p < 0.05$)

*** Porcentajes de mortalidad con diferente literal, son estadísticamente significativos: ($p < 0.001$)

Cuadro 3. Desafío a los 28 días de edad con la cepa Chimalhuacán del VENC, fecha de revacunación de los grupos B y E, vacunados a los 8 días de edad con dos vacunas emulsionadas diferentes, y a los 10 días con la cepa B1 de la ENC.

Lote	Título Predesafío	Título Postdesafío	% de Mortalidad
B1	4.0854 *	5.9378 *	6.66
B2	3.5749	6.9003	6.66
B3	4.7802	7.1359	6.66
Grupo B	4.1468 a **	6.6580 a	6.66 a ***
E1	4.2822	6.8348	6.66
E2	4.3734	6.7031	0.00
E3	4.8310	6.8173	6.66
Grupo E	4.4955 a	6.7850 a	4.44 a
Grupo Testigo Positivo	2.28 b	7.2900 a	100.00 b

* Valores expresados en títulos geométricos medios $\text{Log}_2 10$ UHA, que corresponden a 45 sueros por grupo y 15 por réplica, obtenidos antes del desafío y quince días después.

** Títulos geométricos medios en la misma columna con diferente literal, son estadísticamente significativos: ($p < 0.05$)

*** Porcentajes de mortalidad con diferente literal, son estadísticamente significativos: ($p < 0.001$)

Cuadro 4. Desafío a los 56 días de edad con la cepa Chimalhuacán, fecha de salida al mercado de los grupos A, B, C, D y E, vacunados con tres vacunas emulsionadas distintas, bajo diferentes programas de inmunización.

Lote	Título Predesafío	Título Postdesafío	% de Mortalidad
A1	4.0221 *	5.2404 *	0.00
A2	2.9277	5.9951	6.66
A3	3.1528	5.5829	6.66
Grupo A	3.3675 ab **	5.6061 c	4.44 a ***
B1	3.0316	6.0425	0.00
B2	3.2226	6.1879	0.00
B3	2.4356	7.2397	0.00
Grupo B	2.8966 b	6.4900 bc	0.00 a
C1	3.1750	6.5297	0.00
C2	3.6186	6.1742	0.00
C3	3.5498	6.2871	0.00
Grupo C	3.4478 ab	6.3303 bc	0.00 a
D1	3.0687	5.1966	0.00
D2	3.2365	6.4629	0.00
D3	3.1036	5.1087	0.00
Grupo D	3.1362 b	5.5894 c	0.00 a
E1	3.4497	4.5890	0.00
E2	3.7248	6.2887	0.00
E3	3.9210	6.2785	0.00
Grupo E	3.6985 a	5.7187 bc	0.00 a
Grupo Testigo positivo	1.00 c	7.1329 a	93.33 b

* Valores expresados en títulos geométricos medios Log_2 que corresponden a 45 sueros por grupo y 15 por réplica, obtenidos antes del desafío y quince días después del mismo.

** Títulos geométricos medios con diferente literal en la misma columna, son estadísticamente significativos: ($p < 0.05$)

*** Porcentajes de mortalidad estadísticamente significativos: ($p < 0.001$)

Cuadro 5. Principales parámetros productivos del pollo de engorda obtenidos a los 56 días de edad fecha de salida al mercado, de los grupos A, B, C, D y E, alojados cada uno en casetas de ambiente natural, bajo distintos programas de inmunización con tres diferentes vacunas emulsionadas.

Grupos	Consumo de alim. *	Peso final por ave *	Conversión alimenticia	Gan. diar. de peso **	Índice de productivi.	Mortalidad en %
A	5.73	2.19	2.61	36.58	135.00	3.67
B	5.71	2.20	2.59	36.75	138.03	2.72
C	5.74	2.19	2.62	36.58	136.59	2.17
D	5.67	2.26	2.50	37.75	145.88	3.39
E	5.53	2.25	2.46	37.58	148.51	2.78

* El consumo de alimento se expresa en kilogramos consumidos por ave, el peso final por ave está determinado de igual manera en kilogramos.

** La ganancia diaria de peso está representada en gramos obtenidos por ave.

Cuadro 6. Principales parámetros productivos en promedios generales del pollo de engorda obtenidos a las diez semanas de edad, fecha final de salida al mercado de los grupos A, B, C, D y E, alojados cada uno en casetas de ambiente natural, bajo distintos programas de inmunización con tres diferentes vacunas emulsionadas.

Grupos A,B,C,D,E.	Consumo de alim. *	Peso final por ave *	Conversión alimenticia	Gan. diar. de peso **	Índice de productivi.	Mortalidad en %
Promedio General	5.43	2.563	2.12	42.65	192.88	5.01

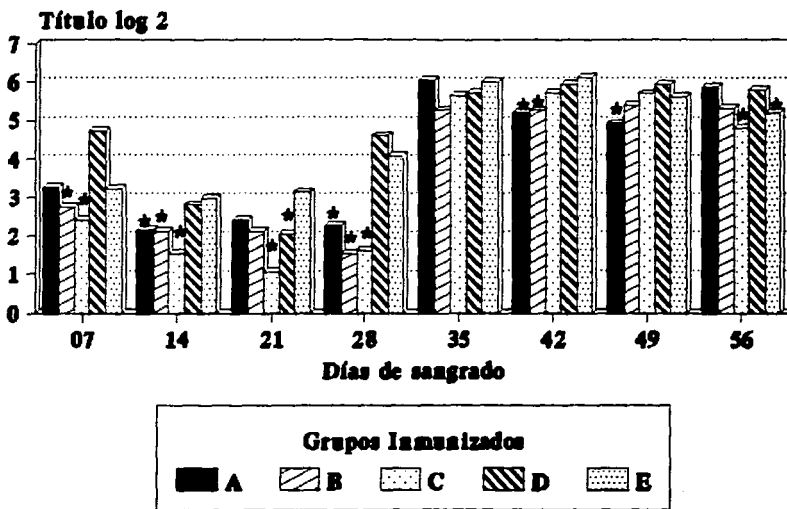
* El consumo de alimento se expresa en kilogramos consumidos por ave, el peso final por ave está determinado de igual manera en kilogramos.

** La ganancia diaria de peso está representada en gramos obtenidos por ave.

Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad y viabilidad del pollo de engorda obtenidos a las diez semanas de edad, fecha final de salida al mercado de los grupos A, B, C, D y E, alojados cada uno en casetas de ambiente natural, bajo distintos programas de inmunización con tres vacunas emulsionadas diferentes.

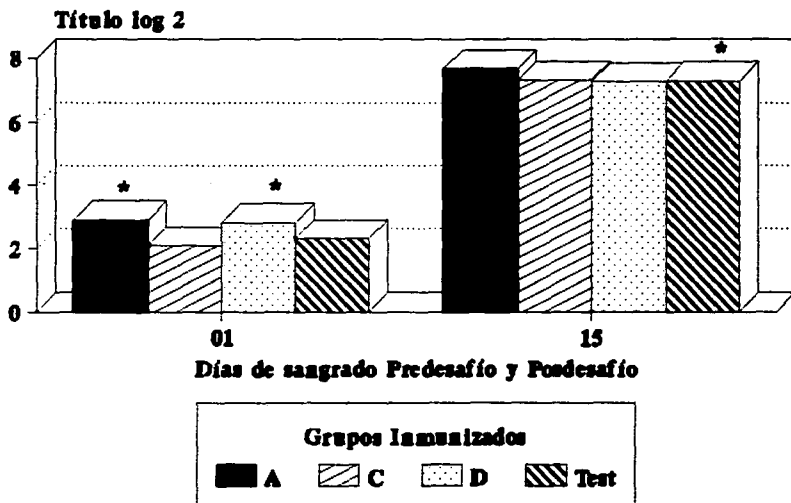
Categoría	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo E
Porcentaje de mortalidad	6.20 %	4.32 %	4.55 %	5.10 %	4.49 %
Porcentaje de Viabilidad	93.8 %	95.68 %	95.45 %	94.9 %	95.51 %

FIGURA 1. Título Geométrico Medio de IH-ENC obtenidos de aves bajo distintos programas de inmunización



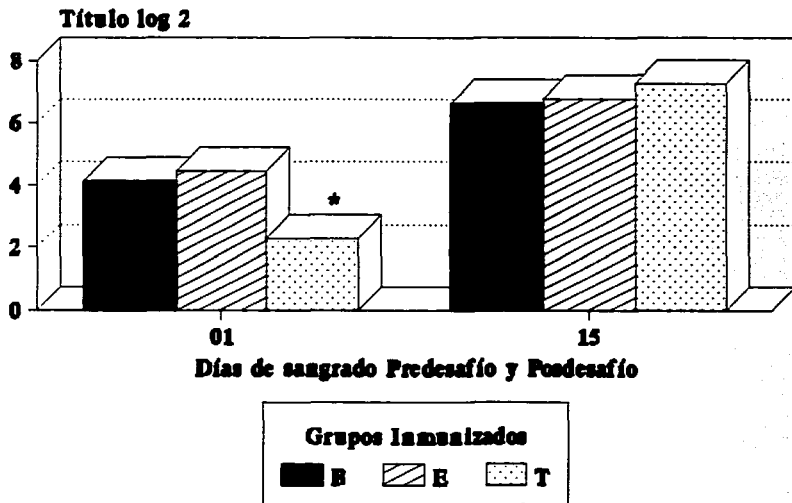
* $P < 0.05$

FIGURA 2. Título Geométrico Medio de IH-ENC obtenido de aves bajo desafío al día 21 de edad



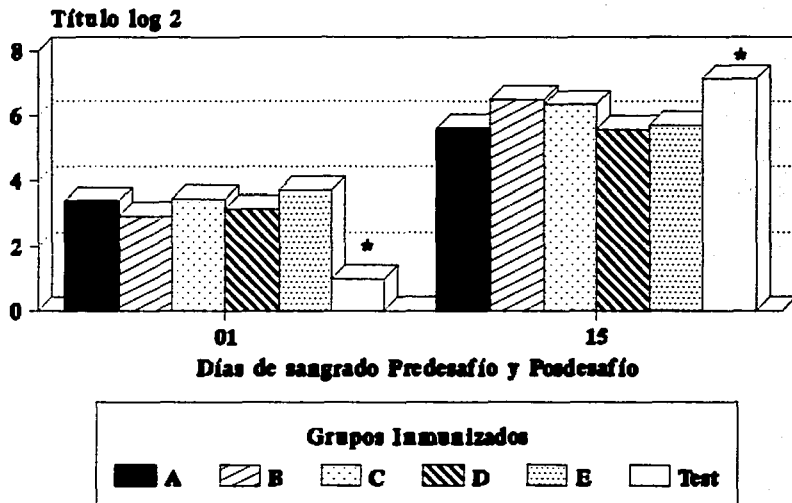
* $P < 0.05$

FIGURA 3. Título Geométrico Medio de IH-ENC obtenido de aves bajo desafío al día 28 de edad.



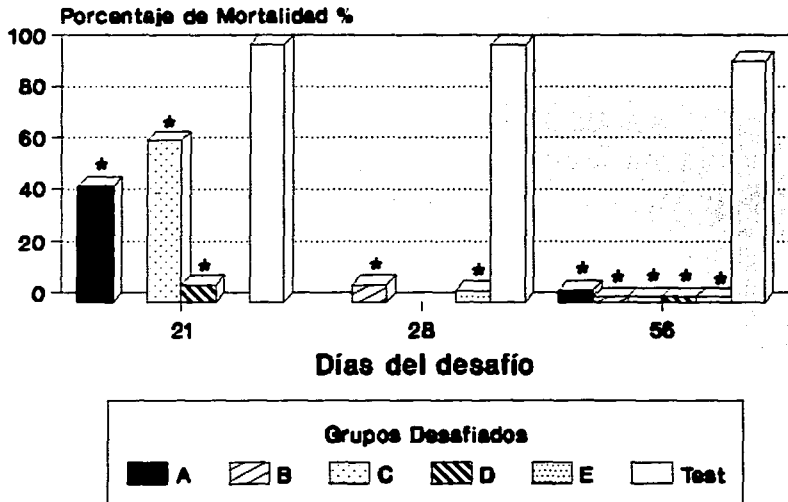
* $P < 0.05$

FIGURA 4. Título Geométrico Medio de IH-ENC obtenido de aves bajo desafío al día 56 de edad.



* $P < 0.05$

FIGURA 5. Porcentajes de Mortalidad en los diferentes grupos inmunizados y desafiados a los 21, 28 y 56 días.



* $p < 0.001$