



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA, VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN Y APLICACIÓN COMPARATIVA
DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA LA DETECCIÓN
DEL VIRUS DE LEUCOSIS AVIAR SUBGRUPO J
EN REPRODUCTORES PESADOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

GUILLERMO ZAVALA VARGAS

ASESORES:

DVMC Tamas Lazlo Fehervari Bone

MVZ, MAM, MSc, PhD, Dipl. ACPV. Guillermo Zavala Hidalgo

“Por mi raza hablará el espíritu”



México, D.F.

2005

m. 348574



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIA

A mi madre, a quien la vida le mostró el lado duro de lograr las cosas y nunca ha cesado de impulsarme para luego festejar juntos logros como éste, que bien sabemos, es una meta para nosotros dos. Mamá, qué mejor ejemplo que el tuyo, merece toda mi admiración y respeto pues nunca has bajado los brazos para sacarme adelante.

A mi abuelo Gabriel pues siempre estará en mi corazón, te extraño mucho "Pá".

AGRADECIMIENTOS

A la vida, que increíble oportunidad con cada día que nos regala, gracias.

A mis padres, pues hace algunos años se vieron envueltos en una situación sumamente difícil de soportar para dos niños jugando al amor, ellos decidieron aventurarse a ser padres y espero que lo que hoy les entrego les confirme que aunque ya no estamos juntos, valió la pena la aventura, gracias Mamá, gracias Papá.

A toda mi familia pues durante mi vida han estado ahí para apoyarme siempre, en particular a mis abuelos: Gabriel, Guillermina y María pues han dejado una profunda huella de amor en mi vida.

A mi maravillosa esposa, MVZ Nellyda Morales, compañera de Generación en la Facultad, inseparable amiga, esposa única e increíble y admirable madre. Gracias mi amor, sin ti, no sería ni la mitad de lo que soy.

A mis dos hijas, Brenda y Jessica, por quienes respiro y vivo cada día.

A Manuel Hernández Esparza, padre no siempre es el que engendra sino el que educa, gracias por contribuir con mi educación y formación como persona.

A Louise Dufour-Zavala, quien sin ninguna obligación, ha estado apoyándome y mostrándome su amor desde el día en que la conocí.

A la UNAM, parte fundamental en el desarrollo de varios miembros de mi exitosa familia, hoy me uno a ellos, gracias.

A mi querida Facultad y a todos los profesores y compañeros con quienes tuve contacto, de cada uno, seguro aprendí algo positivo, gracias.

Al Dr. Guillermo Téllez Isaías, por la oportunidad que me dio, gracias.

Al Dr. Tamas Fehervari, por su paciencia e invaluable apoyo en este proyecto.

A la Universidad de Georgia, al Georgia Poultry Laboratory System y todas las personas que abrieron las puertas para la fase experimental de este trabajo en ambas instituciones.

Al Deporte, parte fundamental en mi educación y formación como persona en la vida, al Fútbol Americano y, en particular, a los Cóndores, hoy Pumas de la UNAM, pues mi carácter y forma de ver la vida cambió desde 1996.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	1
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN	7
HIPÓTESIS	8
OBJETIVOS	9
MATERIAL Y MÉTODOS	10
RESULTADOS	15
TABLA 1 DE RESULTADOS	18
TABLA 2 DE RESULTADOS	23
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
DISCUSIÓN	39
COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	40
CONCLUSIONES	41
REFERENCIAS	42

LISTA DE ABREVIATURAS

LM – LEUCOSIS MIELOIDE

VLA – VIRUS DE LEUCOSIS AVIAR

VLA-J – VIRUS DE LEUCOSIS AVIAR SUBGRUPO-J

SPF – EMBRIONES LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS

C/O - FIBROBLASTOS DE EMBRIÓN DE POLLO QUE PERMITEN
CRECIMIENTO DE VIRUS ENDÓGENOS Y EXÓGENOS

C/E – FIBROBLASTOS DE EMBRIÓN DE POLLO QUE SÓLO PERMITEN
CRECIMIENTO DE VIRUS EXÓGENOS

ELISA – PRUEBA DE INMUNOADSORCIÓN LIGADA A ENZIMAS

ACELISA – PRUEBA DE INMUNOADSORCIÓN LIGADA A ENZIMAS DE
CAPTURA DE ANTÍGENO

SSF – SUERO SALINO FISIOLÓGICO

FEP – FIBROBLASTOS DE EMBRIÓN DE POLLO

PCR – PRUEBA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

RESUMEN

ZAVALA VARGAS GUILLERMO. Evaluación y aplicación comparativa de pruebas diagnósticas para la detección del virus de leucosis aviar subgrupo J en reproductores pesados (bajo la dirección de: DVMC Tamas Laszlo Fehervari Bone y MVZ, MAM, MSc, PhD, Dipl. ACPV Guillermo Zavala Hidalgo)

Debido a que la sensibilidad y especificidad de varias pruebas diagnósticas para el VLA-J, son pobremente comprendidas, se obtuvieron muestras de: sangre (plasma y suero), mucosa de cloaca y vagina, semen, huevos fértiles y albúmina fluida a partir de noventa y dos aves de una parvada comercial de reproductores pesados de 34 semanas de edad pertenecientes a las estirpes: Avian 89 (línea macho) y Hubbard Hi-Y (línea hembra) que fueron diagnosticadas previamente como positivas al VLA-J mediante PCR, las muestras de mucosa cloacal y vaginal fueron almacenadas a dos diferentes temperaturas (4°C y -20°C) para posteriormente procesar dichas muestras mediante dos marcas de estuches comerciales de ACELISA y comparar la sensibilidad y especificidad de ambos estuches así como establecer mediante prueba de Ji cuadrada y análisis de varianza, a través de comparación de medias de títulos positivos, si existen diferencias estadísticamente significativas entre las dos temperaturas de conservación. También se utilizaron células de FEP fenotipo C/E y C/O para aislar el virus. Los resultados permiten concluir que es mejor procesar muestras de suero, obtener muestras de hisopos cloacales y conservarlas a temperatura de congelación (-20°C), emplear células de FEP fenotipo C/E y utilizar estuches comerciales de ACELISA "B". Con base en los resultados obtenidos, se sugiere que las aves que arrojan resultados positivos en la prueba de ELISA a partir de células C/E, es decir, virus exógenos o infecciosos y económicamente importantes, podrían ser eliminadas.

INTRODUCCIÓN

La Leucosis Mieloide (LM) es una condición infecciosa y neoplásica reconocida primordialmente en pollos de engorda y reproductores pesados; las aves productoras de huevo para plato también son susceptibles a la infección (1,12,21,22,27). Esta enfermedad es ocasionada por un retrovirus, que parece ser producto de una recombinación de material genético de virus de leucosis aviar (VLA) exógeno con secuencias genéticas de VLA endógeno (subgrupo E) (1,2,18,19,22). Este virus fue aislado en el Reino Unido por el Dr. L.N. Payne y colaboradores a fines de los años '80 y ha sido clasificado como el virus de leucosis aviar subgrupo J (VLA-J) (1,2,3,17,20). El VLA-J puede infectar cultivos celulares de otras especies de aves pero no así células de mamífero (1,17). La infección clínica puede resultar en baja fertilidad (debido a mermas en la viabilidad de los machos) y en un número reducido de pollitos nacidos por gallina encasetada (debido a la alta mortalidad de las reproductoras, alcanzando un 6-8% de mortalidad mensual o mayor cuando se encuentra en su pico) (26). Varios tipos de tumores pueden encontrarse en un 60-70% de la mortalidad en parvadas de aves adultas severamente afectadas; los mielocitomas son los tumores más comunes (1,17,25,29). Se han determinado algunos de los efectos del VLA-J sobre el pollo de engorda (1,22). Observaciones clínicas sugieren que los pollos de engorda provenientes de parvadas de reproductores con altas proporciones de eliminación del virus presentan problemas de uniformidad, palidez, mortalidad tardía (>5 semanas de edad) y tumores ocasionales. Pero muchas parvadas de pollos de engorda provenientes de aves infectadas pueden no presentar problemas. Las leucemias mielocítica y eritrocítica son las más comúnmente halladas en aves adultas afectadas. Todo lo anterior ocasiona una pobre actividad económica en pollos de engorda y reproductores, pero se requiere de futuras investigaciones para realizar una clara evaluación del efecto de este virus sobre los parámetros productivos en reproductores y pollos de engorda (1,2,22). Dentro de la estructura vertical de la avicultura, a nivel de pedigríes, los programas de erradicación pueden obligar a reducir la presión de selección genética en los reproductores primarios de tal forma que se pueden eliminar las

aves infectadas dentro de la población de pedigrees. La mayoría de los tumores asociados con la infección por VLA-J son mieloblastomas o mielocitomas; éstos se presentan generalmente a partir de las 17 semanas de edad, pero se han reproducido en aves de menos de 8 semanas (30). Las variaciones en la signología clínica dependerán, al menos, de: edad en que ocurrió la infección, composición genética de la estirpe, presencia de agentes inmunosupresores, múltiples factores predisponentes o que compliquen el ambiente y factores de manejo. La presentación de tumores y eliminación viral parecen ser mayores durante las primeras semanas de producción de huevo pero pueden permanecer durante toda la vida de la parvada. Casos de LM aguda con alta mortalidad podrían ser el resultado de la infección por cepas altamente transformantes del VLA-J que pueden activar e incorporar (transducir) oncogenes celulares a su propio genoma (23). Tomando en cuenta que el VLA-J es transmitido tanto vertical (infección congénita del embrión) como horizontalmente (a través de contacto directo con aves infectadas o fomites), la transmisión horizontal es un gran desafío para los reproductores primarios, debido a que ocurre rápidamente durante las primeras semanas de vida, antes que los animales infectados puedan ser identificados mediante pruebas de diagnóstico convencionales (1,2,13). La LM ha sido diagnosticada en el campo en varios países mediante la identificación de lesiones macroscópicas, aunque el diagnóstico definitivo requiere del aislamiento y caracterización del virus.

El VLA-J se comporta como virus exógeno, de ahí que las medidas de control utilizadas para otros virus exógenos, puedan ser utilizadas para controlarlo. Sin embargo, la habilidad que posee para dispersarse horizontalmente es mucho más eficiente que cualquier otro subgrupo del VLA. Además, aparentemente existe diversidad antigénica y molecular entre las cepas de campo del VLA-J aisladas en Europa y Norte América, lo cual podría provocar que no siempre funcionen las pruebas diagnósticas más recientes (1,2,24,28).

El VLA-J llegó a diseminarse en gran proporción en parvadas de pollo de engorda. La mayor parte de los problemas para la avicultura en los próximos años se enlista a continuación:

a) El VLA-J se muestra genéticamente inestable, lo cual significa que probablemente algunas de las pruebas diagnósticas (actuales o desarrolladas en el futuro) no tendrán una aplicación universal y que existe la posibilidad de que aparezcan nuevas cepas dentro del subgrupo J, o incluso nuevos subgrupos de VLA como resultado de recombinación genética. Más aún, es posible que exista potencial para desarrollar vacunas recombinantes y/o de virus inactivado(1,13,18,22);

b) pocos laboratorios tienen la capacidad o incluso el interés requerido para realizar investigaciones sobre el VLA-J. Tomando como base que el VLA-J es un problema relativamente reciente para la industria, el número de científicos requeridos para generar información es muy pequeño. Aunque se ha realizado cierta investigación por parte de los reproductores primarios la cual ha resultado productiva, su alto costo y dificultad técnica deben complementarse con el esfuerzo combinado de laboratorios independientes. Resulta difícil que los reproductores primarios puedan resolver problemas similares por sí solos en un corto período de tiempo cuando no existen el conocimiento suficiente, herramientas ni recursos económicos;

c) los fibroblastos primarios de embrión de pollo que solamente permiten el crecimiento de virus exógenos (células con fenotipo C/E) resultan esenciales para realizar un buen trabajo con VLA-J. Desafortunadamente éstas células no son producidas de manera comercial y existe la necesidad de incrementar el número de parvadas existentes y hacer sus huevos comercialmente disponibles para apoyar las necesidades de la industria. La industria productora de embriones libres de patógenos específicos (SPF) podría contribuir con la producción de huevos SPF de éste fenotipo. Una alternativa es la utilización de la línea celular fibroblastoide DF-1 (ATCC), que también posee el fenotipo C/E;

d) no existen herramientas diagnósticas específicas para VLA-J que hayan sido desarrolladas comercialmente, a excepción de pruebas de inmunoadsorción ligada a enzimas para la detección de anticuerpos contra VLA-J (14,15,16,31). Algunos ejemplos de sistemas deseables para una erradicación efectiva son: 1) una prueba de anticuerpos específicos para VLA-J; 2) una prueba de captura de

antígeno (ACELISA) específica; 3) pruebas diagnósticas rápidas que permitirían una pronta eliminación de las aves infectadas antes de que el virus se disemine de forma horizontal o vertical; 4) pruebas diagnósticas funcionales para la posible diversidad antigénica existente entre aislamientos de campo; y 5) herramientas para diferenciar virus endógenos y exógenos;

e) existe la necesidad de comprender clara y objetivamente las herramientas diagnósticas disponibles comercialmente para poder aplicarlas al 100%;

f) la investigación realizada sobre los aspectos epidemiológicos de la infección por VLA-J es muy limitada. Las posibles interacciones del VLA-J con otros virus vacunales o de campo deben ser investigadas, o al menos evaluadas con respecto a su impacto clínico y económico (22);

g) el conocimiento básico de la biología del VLA-J y su relación con las prácticas de manejo en la avicultura, podrían ser de mucho valor para un control efectivo en campo (1).

JUSTIFICACIÓN

La sensibilidad y especificidad, así como también la aplicación práctica de varias pruebas diagnósticas actuales, son pobremente comprendidas. Los datos actuales provienen de empresas de reproductores primarios a través de sus propias experiencias, pero la mayor parte de la información es considerada propia. Varias investigaciones han sido publicadas con referencia hacia el diagnóstico de VLA y comparaciones diagnósticas; sin embargo, la mayoría de las investigaciones publicadas involucran al VLA endógeno y exógeno, con excepción del VLA-J. Se carece de un consenso general de la aplicación, sensibilidad, especificidad y valoración objetiva de las pruebas de diagnóstico actuales para ser utilizado por las empresas de reproductores primarios, productores de pollo de engorda, laboratorios de diagnóstico e instituciones de investigación dentro del contexto de la infección por VLA-J.

HIPÓTESIS

No existen diferencias estadísticamente significativas para sensibilidad y especificidad entre 2 estuches comerciales de inmunoadsorción ligada a enzimas (ACELISA) para: suero y plasma e hisopos cloacales y vaginales.

OBJETIVOS

- 1.- Comparar suero con plasma como muestras para la detección de VLA a través de la captura de antígeno específico de grupo por medio de ELISA (ACELISA).
- 2.- Comparar hisopos cloacales con hisopos vaginales como muestras para la detección de VLA a través de la captura de antígeno específico de grupo por medio de ELISA (ACELISA).
- 3.- Comparar dos temperaturas de conservación (-20°C vs 4°C) para los hisopos cloacales y vaginales antes de su procesamiento mediante ACELISA.
- 4.- Comparar dos fuentes genéticas de fibroblastos de embrión de pollo (C/E vs C/O) como sustratos para el aislamiento y propagación del virus de leucosis aviar (VLA) a partir de muestras clínicas.
- 5.- Comparar la sensibilidad y especificidad de dos estuches comerciales de ACELISA (A vs B) utilizados por la industria y laboratorios de diagnóstico para la detección de VLA.

Esta información podría aclarar el valor relativo y aplicación potencial de varias pruebas diagnósticas utilizadas actualmente con aplicación específica en reproductores primarios, reproductores pesados y pollos de engorda. Los datos deberían también proporcionar una contribución significativa para la comprensión de la epidemiología de la infección por VLA-J en pollos de engorda.

Palabras clave: VLA, VLA-J, leucosis aviar, diagnósticos, ELISA, ACELISA, hisopos cloacales, hisopos vaginales, semen, plasma, suero, C/E, C/O.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material.

Aves.

Noventa y dos aves (62 hembras y 30 machos) de una parvada comercial de reproductores pesadas de 34 semanas de edad pertenecientes a las estirpes: Avian 89 (línea macho) y Hubbard Hi-Y (línea hembra) alojadas en casetas de ambiente natural con piso de rejillas y nidos, comederos y bebederos automáticos.

Otros materiales:

- 100 Hisopos estériles
- 100 tubos estériles con capacidad de 7ml
- 100 jeringas con capacidad de 10 ml
- 10 kits de ELISA para Leucosis de marca comercial A
- 10 kits de ELISA para Leucosis de marca comercial B
- 100 embriones de huevos C/O
- 100 embriones de huevos C/E
- 100 cajas de Petri estériles de 35 mm de diámetro
- 100 cajas de Petri estériles de 60 mm de diámetro
- Suero Salino Fisiológico (SSF)
- Sulfato de Gentamicina
- Hieleras convencionales
- Congeladores (-20°C)
- Solución de cuaternarios de amonio (Bioguard®)
- Tubos de micro centrifuga con capacidad de 1.8cc
- Cemento líquido
- Solución F-10 (10X) Gibco
- Solución M199 (10X) Gibco
- TPB
- Anfotericina B
- Solución amortiguadora hepes 1M

- Agua bidestilada y estéril
- bicarbonato de sodio
- desinfectante formulado con cuaternarios de amonio
- Pinzas y tijeras estériles
- solución de tripsina al 0.25%
- incubadora (37°C)
- suero fetal bovino
- 120 filtros de 0.22 micras para cultivo de tejidos
- Solución Tween 80 al 5%

Historia clínica.

La parvada presentaba signos clínicos y lesiones (tumores en tráquea y/o cloaca) asociadas a leucosis mieloide. El diagnóstico fue confirmado, previo a la fase experimental, mediante observación de lesiones microscópicas y aislamiento viral además de que se demostró la presencia del virus de leucosis aviar, subgrupo J, mediante una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Muestras.

Hisopos cloacales, hisopos vaginales, semen, sangre (plasma y suero), huevos fértiles, albúmina fluida.

Métodos.

Hisopos cloacales. Los hisopos se introdujeron en la cloaca aproximadamente 3 cm en dirección ventro lateral derecha girando el mismo durante 3 a 5 segundos para obtener la muestra. Se colocó el hisopo en tubos estériles con capacidad de 7 ml conteniendo 1 ml de SSF (pH 7.2) y sulfato de gentamicina. Posteriormente se almacenaron en refrigeración a 4-7°C hasta su procesamiento.

Hisopos vaginales. Se utilizaron hisopos estériles para recolectar las muestras introduciendo éstos en la vagina aproximadamente 3 cm y girando el hisopo para obtener la mayor cantidad de secreción mucosa posible. Cada uno de ellos se colocó en un tubo estéril con capacidad de 7 ml conteniendo 1 ml de SSF (pH 7.2) más sulfato de gentamicina. Posteriormente se almacenaron en refrigeración a 4-7°C hasta su procesamiento.

Sangre. Se introdujo la aguja en la vena radial en dirección distal para obtener 3 ml.

Semen. Las muestras se obtuvieron por medio de electroestimulación de los machos.

Procesamiento de las muestras (hisopos cloacales, hisopos vaginales, plasma, suero y semen). Se trabajó en campanas de bioseguridad de nivel 2 a temperatura ambiente (21-26°C). Las muestras se dividieron para ser almacenadas a dos diferentes temperaturas (-20°C y 4°C) para su posterior análisis mediante una prueba de inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para ello, 200 µl fueron transferidos de la solución final de cada una de las muestras a placas de 96 celdas las cuales fueron sometidas a congelación (-20°C) o refrigeración (4°C).

Huevos fértiles (albúmina fluida). Se utilizaron una jeringa y una aguja estériles con capacidad de 1 ml para cada uno de los 120 huevos recolectados. Se iluminaron los 120 huevos para localizar el borde de la cámara de aire y así poder marcar el sitio de obtención de la muestra. Las muestras se obtuvieron a temperatura ambiente (21-26°C) en campanas de flujo laminar. Se desinfectaron los huevos con una solución de cuaternarios de amonio (Bioguard®) y se dejó secar la solución. Una vez perforados se obtuvieron 0.3 ml de albúmina fluida por huevo.

Las muestras se colocaron en tubos de micro centrifuga con capacidad de 1.8cc y se diluyeron a una concentración de 1:1 con SSF (0.3cc albúmina : 0.3cc SSF) (pH 7.2) y sulfato de gentamicina. Finalmente se sellaron los huevos con cemento líquido.

Preparación de medio de cultivo F-10 + M199 (500 ml).

(Según Manual de Laboratorio del Dr. Villegas)

F-10 (10X) Gibco	20 ml
M199 (10X) Gibco	20 ml
TPB	10 ml
Sulfato de gentamicina (50 mg/ml)	0.5 ml
Anfotericina B	5 ml
Solución amortiguadora hepes 1M	6 ml
Agua bidestilada y estéril aforar hasta	500 ml
Ajustar el pH a 7.2 con bicarbonato de sodio	

Preparación de fibroblastos de embrión de pollo (células primarias) para cultivo de tejidos.

Se utilizaron embriones de 9-11 días de edad.

se trabajó en campanas de bioseguridad de nivel 2.

se rociaron los huevos con un desinfectante formulado con cuaternarios de amonio.

se abrió el cascarón y se retiraron los embriones.

se colocaron los embriones en una caja de Petri estéril.

se cortaron las cabezas y los miembros.

se retiraron las vísceras.

se pasaron los embriones a través de una jeringa estéril con capacidad de 10cc y

los restos se virtieron en un vaso de precipitados estéril con capacidad de 80ml.

con tijeras estériles se picaron los restos.

se adicionó SSF para lavar los restos.

se cambió la SSF 4 veces para eliminar la mayor cantidad de eritrocitos posible.

se vertió el contenido hacia un matraz estéril con barra magnética de tripsinización y conteniendo una solución de tripsina al 0.25%. El matraz se colocó en la incubadora (37°C) a velocidad baja por 6 min.

se vertió el contenido en un tubo de centrifuga con suero fetal bovino frío.

se centrifugó por 10 min a 1500 rpm a 4°C.

se resuspendió el paquete celular en 3-5ml de medio F10-M199 a una concentración de 175,000 células por ml.

se colocó la solución obtenida en cajas de Petri (2 ml en caja de 35mm de diámetro o 5 ml en caja de 60 mm de diámetro).

Procesamiento de los hígados tumorales en cultivo de tejidos:

se maceraron los órganos en SSF.

se colocaron en medio F10 + M199.

se filtraron (filtros de 0.22 micras para cultivo de tejidos).

se colocó el filtrado en un matraz con barra magnética de tripsinización.

se mezcló con la tripsina (0.25%) por 14 minutos en una incubadora a 37°C .

se vertió en un tubo de centrifuga graduado y se le adicionaron 5ml de suero fetal bovino y se colocó en un recipiente con hielo para detener el efecto de la tripsina.

se centrifugaron a 1500 rpm a una temperatura de 4°C por 10 min.

el sobrenadante se inoculó en fibroblastos de embrión de pollo (FEP) línea genética "0", fenotipo (C/E).

se incubó por 36 hrs. y se cambió el medio de cultivo.

se incubó a 37.5°C con 5% de CO₂ 7-11 días.

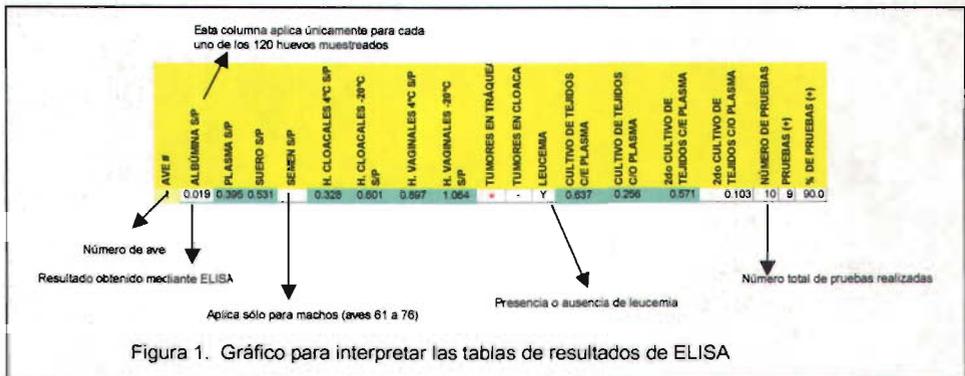
se adicionó Tween 80 al 5% y se congeló (-20°C) y descongeló a temperatura ambiente (21°C) 3 veces.

se colectó el sobrenadante para correr la prueba de ELISA (p27), los valores ≥ 0.2 en la relación "sample/positive" se tomaron como positivos.

Para el análisis estadístico se empleará la prueba de Ji cuadrada y la comparación de medias de positivos.

RESULTADOS.

Para poder comprender las tablas de resultados que serán citadas dentro del texto, a continuación se presenta un gráfico a manera de guía (figura 1). Es importante mencionar que los resultados considerados como positivos son aquellos que arrojaron un valor igual o mayor a (0.200). Con respecto a los huevos recolectados, cabe aclarar que esa columna dentro de las tablas 1 y 2 es la única que no corresponde con el resto de las columnas en ambas tablas, esto se debe a que los huevos no corresponden específicamente a cada una de las aves sino que se tomaron estas muestras únicamente para detectar si las hembras estaban eliminando virus lo cual indicaría la presencia de virus exógenos.



Al final de cada una de las dos tablas, en las últimas tres filas, se encuentran los datos que se expresan a continuación:

Estuche comercial "A" (ver tabla 1).

Treinta y dos muestras de albúmina resultaron positivas, 28 aves fueron positivas en plasma, 30 positivas en suero, 4 muestras de semen tomadas a partir de los machos dieron positivo, 27 muestras de hisopos cloacales conservadas a 4°C fueron positivas, 42 muestras de hisopos cloacales conservadas a -20°C resultaron positivas, 18 muestras de hisopos vaginales conservadas a 4°C fueron positivas, 18 muestras de hisopos vaginales conservadas a -20°C fueron positivas, 12 muestras del cultivo de tejidos a partir de células C/E fueron positivas y 17 muestras del cultivo de tejidos a partir de células C/O fueron positivas. Se

realizó un segundo cultivo de tejidos, a partir de las células C/E se obtuvieron 13 resultados positivos y 10 resultados positivos a partir de las células C/O.

Estuche comercial "B" (ver tabla 2).

Veintinueve muestras de albúmina resultaron positivas, 26 aves fueron positivas en plasma, 44 positivas en suero, 3 muestras de semen tomadas a partir de los machos dieron positivo, 20 muestras de hisopos cloacales conservadas a 4°C fueron positivas y 19 muestras de hisopos vaginales conservadas a 4°C fueron positivas.

Ejemplos de resultados positivos y negativos.

Si observamos los resultados del ave # 5 (tablas 1 y 2), es éste un caso de un ave que no presentaba tumores ni en cloaca ni en tráquea y que en todas las muestras procesadas no arrojó resultados positivos, es esta un ave negativa. Observando los resultados del ave # 10 (tablas 1 y 2), en éste caso el ave presentaba tumores tanto en tráquea como en cloaca y todas sus muestras procesadas resultaron positivas, no existe duda, es un ave positiva. Los resultados que representan mayor peso en términos económicos para la industria avícola son los concernientes al cultivo de tejidos en células C/E. Debido a que dichas células sólo permiten el crecimiento de virus exógenos, esta columna nos permite detectar aves positivas a virus infeccioso. Volviendo al ejemplo del ave # 10 (tabla 1), el ave resultó positiva en el cultivo de tejidos células C/O y en cultivo de tejidos células C/E, tenemos aquí un caso de un ave positiva a virus exógeno. En el caso del ave # 18 (tabla 1), se tiene un resultado positivo a partir de cultivo de tejidos células C/O pero negativo en células C/E, es ésta un ave con virus endógeno o no infeccioso.

Se ha mencionado previamente por parte de otros investigadores como Payne *et al*, Fadly *et al* y Zavala *et al*, la diferenciación de los virus de leucosis (tabla 3), los cuales son conocidos como endógenos y exógenos. Los virus exógenos son capaces de infectar a las aves por vía horizontal y por vía congénita (albúmina de

huevo) y los virus endógenos carecen de importancia clínica y por ende económica. Una vez que el virus exógeno penetra una célula, inserta su material genético y la célula infectada puede seguir cualquiera de dos caminos: producir copias del virus o transformarse en célula tumoral. Considerando lo anterior, podemos sugerir que todas las aves que arrojan resultados positivos en la prueba de ELISA a partir de células C/E, es decir, virus exógenos o infecciosos y económicamente importantes, podrían ser eliminadas.

Tabla 3.

SUBGRUPO	Huésped	TIPO DE VIRUS
A	Gallina	Exógeno
B	Gallina	Exógeno
C	Gallina	Exógeno
D	Gallina	Exógeno
E	Gallina	Endógeno
F	Faisán	Endógeno
G	Faisán	Endógeno
H	Perdiz	Endógeno
I	Codorniz	Endógeno
J	Gallina	Exógeno

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. CLOACALES -20°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	H. VAGINALES -20°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	CULTIVO DE TEJIDOS C/IE PLASMA	CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/IE PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	NÚMERO DE PRUEBAS PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)	
1	0.019	0.395	0.531		0.328	0.601	0.897	1.064	+	-	Y	0.637	0.256	0.571	0.103	10	9	90.0
2	0.645	0.017	0.100		0.238	0.330	0.068	0.083	-	-	N	0.056	0.076	0.000	0.000	10	2	20.0
3	0.000	0.559	1.001		0.623	1.075	0.861	1.123	+	+	Y	0.860	0.437	0.747	0.475	10	10	100.0
4	0.855	0.000	0.027		0.073	0.051	0.000	0.014	-	-	N/D	0.047	0.140	0.036	0.000	10	0	0.0
5	0.000	0.000	0.009		0.000	0.048	0.000	0.000	-	-	N	0.115	0.043	0.022	0.000	10	0	0.0
6	0.013	0.187	0.215		0.010	0.136	0.000	0.000	-	-	N	0.056	0.049	0.043	0.000	10	1	10.0
7	0.000	0.014	0.076		0.045	0.270	0.020	0.026	-	-	N	0.149	0.048	0.006	0.003	10	1	10.0
8	0.000	0.000	0.036		0.000	0.072	0.000	0.000	-	-	N	0.120	0.185	0.027	0.006	10	0	0.0
9	0.003	0.749	0.394		0.048	0.087	0.000	0.026	+	-	N*	0.166	0.084	0.063	0.000	10	2	20.0
10	0.927	0.515	0.337		0.729	0.990	0.843	0.730	+	+	Y	0.321	0.465	0.266	0.322	10	10	100.0
11	1.196	0.263	0.079		0.138	0.194	0.230	0.205	-	-	N	0.075	0.259	0.029	0.036	10	4	40.0
12	0.140	0.294	0.297		0.110	0.157	0.044	0.163	-	-	N	0.044	0.173	0.029	0.047	10	2	20.0
13	0.000	0.537	0.452		0.045	0.285	0.080	0.369	+	-	ML*	1.478	0.254	1.315	0.086	10	7	70.0
14	0.005	0.181	0.067		0.088	0.200	0.000	0.044	-	-	N	0.087	0.051	0.049	0.075	10	1	10.0
15	0.027	0.821	1.134		0.104	0.072	0.000	0.020	-	-	N	0.000	0.081	0.020	0.028	10	2	20.0
16	0.000	0.023	0.112		0.110	0.163	0.173	0.312	-	-	N	0.053	0.024	0.022	0.028	10	1	10.0
17	0.056	0.200	0.161		0.066	0.042	0.000	0.032	-	-	N	0.061	0.076	0.036	0.075	10	1	10.0
18	0.212	1.373	1.110		0.421	1.428	0.250	0.422	-	-	N-	0.149	0.499	0.086	0.542	10	8	80.0
19	0.000	0.108	0.091		0.091	0.260	0.000	0.000	-	-	N/D	0.070	0.037	0.013	0.067	10	1	10.0
20	0.000	0.058	0.024		0.070	0.000	0.000	0.000	-	-	N/D	0.053	0.009	0.000	0.058	10	0	0.0
21	0.102	0.000	0.039		0.000	0.075	0.110	0.000	-	-	N	0.129	0.204	0.049	0.031	10	1	10.0
22	0.024	0.108	0.215		0.035	0.087	0.310	0.005	-	-	N	0.092	0.130	0.065	0.153	10	2	20.0
23	0.062	0.000	0.112		0.010	0.181	0.029	0.011	-	-	N	0.039	0.032	0.056	0.100	10	0	0.0
24	0.255	0.004	0.067		0.035	0.081	0.000	0.000	-	-	N	0.002	0.076	0.081	0.042	10	0	0.0
25	0.567	0.000	0.015		0.060	0.093	0.310	0.020	-	-	N	0.087	0.048	0.061	0.042	10	1	10.0
26	0.831	1.616	2.612		0.182	0.370	0.116	0.017	-	-	N	0.002	0.098	0.079	0.017	10	3	30.0
27	0.000	0.137	0.130		0.000	0.020	0.000	0.020	-	-	N	0.106	0.043	0.097	0.086	10	0	0.0
28	0.000	1.231	1.562		0.318	0.473	0.304	0.601	-	-	N	0.326	0.058	0.451	0.028	10	6	60.0

CÓDIGO

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

*= PROCESO

INFLAMATORIO

ML=MIELOIDE

- = ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ERITROIDE

POSITIVO

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "A"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. CLOACALES -20°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	H. VAGINALES -20°C S/P	TUMORES EN TRAQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	CULTIVO DE TEJIDOS C/IE PLASMA	CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/IE PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	NÚMERO DE PRUEBAS	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
29	0.046	0.093	0.036		0.000	0.130	0.065	0.088	-	-	*	0.056	0.148	0.038	0.125	10	2	20.0
30	0.003	0.077	0.143		0.051	0.142	0.017	0.074	-	-	N	0.081	0.103	0.054	0.072	10	0	0.0
31	0.016	0.074	0.030		0.023	0.124	0.047	0.035	-	-	N	0.053	0.026	0.000	0.061	10	0	0.0
32	0.000	0.093	0.015		0.085	0.078	0.017	0.026	-	-	Y	0.089	0.093	0.004	0.169	10	0	0.0
33	0.024	0.187	0.200		0.673	1.646	0.885	1.159	-	-	N	0.369	0.229	0.419	0.308	10	9	90.0
34	0.395	0.124	0.088		0.000	0.190	0.020	0.074	-	-	N	0.047	0.200	0.038	0.067	10	1	10.0
35	0.000	0.178	0.052		0.013	0.121	0.000	0.038	-	-	N	0.053	0.131	0.056	0.019	10	0	0.0
36	0.003	0.799	0.840		0.122	0.321	0.322	0.366	-	-	N	0.304	0.173	0.343	0.231	10	8	80.0
37	0.035	0.067	0.042		0.000	0.020	0.074	0.032	-	-	N	0.033	0.081	0.000	0.042	10	0	0.0
38	0.019	0.269	0.070		0.000	0.057	0.008	0.017	-	-	N	0.010	0.095	0.000	0.031	10	1	10.0
39	0.013	0.178	0.158		0.060	0.771	0.077	0.181	-	-	N	0.075	0.066	0.002	0.056	10	1	10.0
40	0.005	0.159	0.094		0.017	0.154	0.011	0.000	-	-	N	0.016	0.061	0.000	0.064	10	0	0.0
41	0.051	1.121	1.244		0.328	1.093	0.646	0.819	-	-	N	0.366	0.061	0.341	0.056	10	8	80.0
42	0.589	0.159	0.061		0.000	0.066	0.008	0.032	-	-	N	0.030	0.051	0.000	0.106	10	0	0.0
43	0.000	0.313	0.315		0.465	0.510	0.514	0.756	-	-	YYY	0.913	0.928	0.904	1.206	10	10	100.0
44	0.024	0.029	0.015		0.000	0.136	0.000	0.002	-	-	N	0.033	0.041	0.033	0.436	10	1	10.0
45	0.000	0.452	0.513		0.639	1.364	0.607	0.664	+	-	N	0.183	0.141	0.168	0.183	10	6	60.0
46	0.777	0.298	0.070		0.051	0.212	0.000	0.071	-	-	N	0.013	0.239	0.027	0.194	10	3	30.0
47	0.360	0.000	0.055		0.166	0.266	0.000	0.026	-	-	N	0.010	0.294	0.027	0.189	10	2	20.0
48	0.000	0.074	0.058		0.154	0.099	0.002	0.035	-	-	N	0.120	0.091	0.000	0.017	10	0	0.0
49	0.005	0.323	0.306		0.057	0.017	0.000	0.038	-	-	N	0.123	0.141	0.049	0.103	10	2	20.0
50	0.059	0.812	0.883		0.085	0.443	0.454	0.384	+	-	Y	0.349	0.167	0.305	0.144	10	7	70.0
51	1.118	0.127	0.097		0.421	1.130	0.304	0.363	-	-	N	0.103	0.034	0.047	0.019	10	4	40.0
52	0.011	0.096	0.109		0.000	0.154	0.020	0.038	-	-	N	0.019	0.022	0.008	0.094	10	0	0.0
53	0.000	0.000	0.052		0.000	0.017	0.000	0.000	-	-	N	0.078	0.056	0.000	0.061	10	0	0.0
54	0.000	0.462	0.543		0.402	0.938	0.301	0.521	-	-	N	0.137	0.205	0.054	0.336	10	8	80.0
55	0.000	0.000	0.061		0.000	0.045	0.000	0.000	-	-	*	0.036	0.019	0.000	0.058	10	0	0.0
56	1.110	0.000	0.109		0.275	0.504	0.032	0.053	-	-	N	0.000	0.123	0.000	0.028	10	2	20.0

CÓDIGO

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

* = PROCESO

INFLAMATORIO

ML=MIELOIDE

== ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ÉRITROIDE

POSITIVO

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "A"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. CLOACALES -20°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	H. VAGINALES -20°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	CULTIVO DE TEJIDOS C/IE PLASMA	CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/IE PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	NÚMERO DE PRUEBAS PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
57	0.172	0.588	0.698		0.384	0.142	0.535	0.589	-	-	N/D	0.162	0.220	0.207	0.161	10 7	70.0
58	0.000	0.000	0.115		0.119	0.054	0.000	0.023	-	-	N	0.000	0.141	0.000	0.019	10 0	0.0
59	0.000	0.089	0.370		0.244	0.564	0.065	0.088	-	-	N	0.000	0.068	0.000	0.047	10 3	30.0
60	0.000	0.000	0.209		0.368	0.409	0.000	0.059	-	-	N	0.000	0.027	0.065	0.047	10 3	30.0
61	0.000	0.000	0.276	1.139	0.210	0.516			-	-	N	0.000	0.017	0.058	0.056	9 4	44.4
62	0.000	0.307	0.631	0.000	0.331	0.868			-	-	N/D	0.000	0.032	0.068	0.081	9 4	44.4
63	0.188	0.000	0.042	0.000	0.434	0.376			-	-	N	0.000	0.019	0.072	0.036	9 2	22.2
64	0.000	0.000	0.036	0.004	0.035	0.291			-	-	N	0.008	0.081	0.000	0.047	9 1	11.1
65	0.000	0.007	0.006	0.000	0.000	0.306			-	-	N	0.000	0.116	0.000	0.081	9 1	11.1
66	0.000	0.168	0.403	0.004	0.004	0.215			-	-	N	0.000	0.071	0.000	0.139	9 2	22.2
67	0.000	0.045	0.042	0.199	0.010	0.154			-	-	N	0.000	0.036	0.000	0.100	9 0	0.0
68	0.000	0.105	0.206	0.097	0.110	0.415			-	-	N	0.000	0.227	0.000	0.128	9 3	33.3
69	0.000	0.039	0.052	0.082	0.141	0.151			-	-	N	0.000	0.084	0.000	0.025	9 0	0.0
70	0.000	0.358	0.036	1.004	0.222	0.011			-	-	N	0.000	0.000	0.000	0.092	9 3	33.3
71	0.027	0.165	0.082	0.064	0.549	0.491			-	-	N	0.000	0.000	0.000	0.083	9 2	22.2
72	0.352	0.137	0.109	0.052	0.938	0.795			-	-	N	0.000	0.000	0.000	0.031	9 2	22.2
73	0.022	0.077	0.055	0.000	0.163	0.783			-	-	N	0.000	0.009	0.000	0.125	9 1	11.1
74	0.078	0.045	0.039	4.683	0.182	0.564			-	-	*	0.000	0.034	0.000	0.067	9 2	22.2
75	0.030	0.017	0.042	0.000	0.041	0.576			-	-	N	0.000	0.000	0.000	0.050	9 1	11.1
76	0.005	0.077	0.184	0.525	0.007	1.032			-	-	N	0.000	0.165	0.000	0.039	9 2	22.2
77	0.194	0.048	0.103		0.567	1.713	0.601	0.625	*	-	YME	0.290	0.225	0.227	0.272	10 8	80.0
78	0.022	0.000	0.146		0.122	0.203			-	-	N	0.000	0.029	0.000	0.047	8 1	12.5
79	0.892	0.055	0.585		0.178	0.473			-	-	N	0.023	0.037	0.000	0.028	8 2	25.0
80	0.027	0.000	0.012		0.020	0.154			-	-	N	0.000	0.108	0.000	0.056	8 0	0.0
81	0.008	0.771	0.070		0.013	0.066			-	-	N	0.000	0.037	0.014	0.025	8 1	12.5
82	0.142	0.238	0.607		0.020	0.121			-	-	N*	0.000	0.004	0.000	0.042	8 2	25.0
83	0.054	0.017	0.094		0.029	0.221			-	-	N	0.124	0.014	0.084	0.050	8 1	12.5
84	0.056	0.197	0.000		0.032	0.072			-	-	N	0.061	0.129	0.010	0.015	8 0	0.0

CÓDIGO

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

*= PROCESO

INFLAMATORIO

ML=MIELOIDE

~ = ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ERITROIDE

POSITIVO

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "A"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. CLOACALES -20°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	H. VAGINALES -20°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	CULTIVO DE TEJIDOS C/E PLASMA	CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/E PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	NÚMERO DE PRUEBAS PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
85	0.027	0.014	0.167		0.238	0.039			-	-	N	0.000	0.064	0.000	0.043	8 1	12.5
86	0.003	0.042	0.009		0.225	0.072			-	-	N	0.002	0.036	0.000	0.000	8 1	12.5
87	0.333	0.026	0.024		0.107	0.060			-	-	N	0.026	0.041	0.000	0.043	8 0	0.0
88	0.005	0.294	0.194		0.126	0.045			-	-	N	0.038	0.067	0.012	0.031	8 1	12.5
89	0.987	0.708	0.564		0.686	0.546	0.000	0.000	+	-	Y	1.363	0.504	1.423	0.455	10 8	80.0
90	0.343	0.118	0.112		0.000	0.000			-	-	N	0.020	0.101	0.017	0.061	8 0	0.0
91	0.000	0.049	0.000		1.776	0.000			-	-	N/D	0.000	0.041	0.000	0.022	8 1	12.5
92	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000			-	-	N	0.000	0.157	0.000	0.129	8 0	0.0
93	0.236																
94	0.536																
95	0.860																
96	0.000																
97	0.000																
98	0.408																
99	0.000																
100	0.000																
101	1.495																
102	0.131																
103	0.144																
104	0.686																
105	0.208																
106	0.206																
107	2.121																
108	0.109																
109	0.425																
110	0.974																
111	0.240																
112	0.210																

CÓDIGO	
Y	= SI
N	= NO
N/D	= NO REALIZADO
*	= PROCESO INFLAMATORIO
ML	= MIELOIDE
~	= ARTEFACTO
YYY	= FOTO
ME	= MIELOIDE+ERITROIDE
	POSITIVO

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "A"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. CLOACALES -20°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	H. VAGINALES -20°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	CULTIVO DE TEJIDOS C/E PLASMA	CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/E PLASMA	2do CULTIVO DE TEJIDOS C/O PLASMA	NÚMERO DE PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
113	0.000																
114	0.000																
115	0.000																
116	2.264																
117	0.017																
118	0.000																
119	0.021																
120	0.039																
TOT*	32	28	30	4	27	42	18	18	9	2		12	17	13	10		
%(+)	26.67	30.43	32.61	25.00	29.35	45.65	19.57	19.57	9.78	2.17		13.04	18.48	14.13	10.87		
%s	24.17	28.26	47.83	18.75	21.74	ND	20.65	ND	9.78	2.17		ND	ND	ND	ND		

CÓDIGO

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

~P= PROCESO

INFLAMATORIO

ML= MIELOIDE

~M= ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ERITROIDE

POSITIVO

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "A"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	TUMORES EN TRAQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	PRUEBAS TOTALES	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
1	0.008	0.614	0.389		1.175	1.627	+	-	Y	4	4	100.0
2	1.741	0.029	0.117		0.736	0.187	-	-	N	4	1	25.0
3	0.070	0.606	2.414		1.717	1.751	+	+	Y	4	4	100.0
4	1.133	0.013	0.012		0.045	0.003	-	-	N/D	4	0	0.0
5	0.000	0.006	0.093		0.000	0.003	-	-	N	4	0	0.0
6	0.004	0.004	0.084		0.071	0.008	-	-	N	4	0	0.0
7	0.001	0.007	0.107		0.120	0.087	-	-	N	4	0	0.0
8	0.001	0.002	0.600		0.087	0.015	-	-	N	4	1	25.0
9	0.002	0.025	0.102		0.098	0.000	+	-	N*	4	0	0.0
10	1.912	0.485	0.329		1.617	1.276	+	+	Y	4	4	100.0
11	2.131	0.057	0.033		0.028	0.256	-	-	N	4	1	25.0
12	0.000	0.000	0.210		0.041	0.073	-	-	N	4	1	25.0
13	0.000	0.997	1.117		0.001	0.019	+	-	ML*	4	2	50.0
14	0.002	0.007	0.010		0.000	0.000	-	-	N	4	0	0.0
15	0.000	0.025	0.080		0.012	0.000	-	-	N	4	0	0.0
16	0.000	0.075	0.065		0.069	0.269	-	-	N	4	1	25.0
17	0.001	0.110	0.511		0.028	0.013	-	-	N	4	1	25.0
18	0.676	1.534	1.066		1.172	0.670	-	-	N~	4	3	75.0
19	0.020	0.004	0.161		0.082	0.001	-	-	N/D	4	0	0.0
20	0.000	0.034	0.088		0.019	0.003	-	-	N/D	4	0	0.0
21	0.281	0.130	0.163		0.041	0.007	-	-	N	4	0	0.0
22	0.010	0.092	0.385		0.044	0.005	-	-	N	4	1	25.0
23	0.007	0.004	0.242		0.028	0.000	-	-	N	4	1	25.0
24	0.525	0.040	0.090		0.016	0.007	-	-	N	4	0	0.0

CÓDIGO:

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

*= PROCESO

INFLAMATORIO

ML=MIELOIDE

--= ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ERITROIDE

POSITIVO

TABLA 2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "B"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	PRUEBAS TOTALES	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
25	1.401	0.000	0.001		0.012	0.007	-	-	N	4	0	0.0
26	1.644	0.279	1.195		0.087	0.036	-	-	N	4	2	50.0
27	0.000	0.250	0.843		0.039	0.011	-	-	N	4	2	50.0
28	0.000	1.655	2.284		1.058	1.241	-	-	N	4	4	100.0
29	0.000	0.034	0.001		0.028	0.000	-	-	*	4	0	0.0
30	0.002	0.158	1.032		0.041	0.017	-	-	N	4	1	25.0
31	0.012	0.002	0.026		0.028	0.000	-	-	N	4	0	0.0
32	0.000	0.040	0.033		0.009	0.015	-	-	Y	4	0	0.0
33	0.000	0.867	0.671		1.863	1.594	-	-	N	4	4	100.0
34	0.810	0.092	0.064		0.000	0.000	-	-	N	4	0	0.0
35	0.001	0.000	0.017		0.003	0.000	-	-	N	4	0	0.0
36	0.001	1.137	1.246		0.439	0.462	-	-	N	4	4	100.0
37	0.007	0.000	0.004		0.009	0.007	-	-	N	4	0	0.0
38	0.001	0.000	0.000		0.007	0.000	-	-	N	4	0	0.0
39	0.005	0.159	0.306		0.736	0.358	-	-	N	4	3	75.0
40	0.000	0.188	0.251		0.009	0.000	-	-	N	4	1	25.0
41	0.007	0.536	1.268		0.577	1.036	-	-	N	4	4	100.0
42	0.008	0.012	0.015		0.000	0.063	-	-	N	4	0	0.0
43	0.035	0.768	1.109		1.108	1.272	-	-	YYY	4	4	100.0
44	0.008	0.000	0.000		0.039	0.000	-	-	N	4	0	0.0
45	0.000	1.692	2.264		1.462	1.287	+	-	N	4	4	100.0
46	1.791	0.034	0.029		0.029	0.005	-	-	N	4	0	0.0
47	0.923	0.007	0.026		0.016	0.003	-	-	N	4	0	0.0
48	0.001	0.069	0.412		0.032	0.048	-	-	N	4	1	25.0

CÓDIGO:

Y= SI
N= NO
N/D= NO REALIZADO
*= PROCESO INFLAMATORIO
ML=MIELOIDE
-= ARTEFACTO
YYY= FOTO
ME= MIELOIDE+ÉRITROIDE
POSITIVO

TABLA 2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "B"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	PRUEBAS TOTALES	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
49	0.002	0.099	0.902		0.000	0.007	-	-	N	4	1	25.0
50	0.004	0.520	2.414		0.436	0.689	+	-	Y	4	3	75.0
51	1.813	0.083	0.407		1.360	0.505	-	-	N	4	3	75.0
52	0.000	0.092	0.509		0.017	0.034	-	-	N	4	1	25.0
53	0.013	0.007	0.023		0.028	0.000	-	-	N	4	0	0.0
54	0.013	0.244	1.107		1.373	1.082	-	-	N	4	4	100.0
55	0.034	0.012	0.263		0.028	0.008	-	-	*	4	1	25.0
56	1.917	0.001	0.170		0.391	0.167	-	-	N	4	1	25.0
57	0.000	1.350	1.729		1.156	1.225	-	-	N/D	4	4	100.0
58	0.000	0.015	0.006		0.000	0.004	-	-	N	4	0	0.0
59	0.002	0.110	0.849		0.106	0.236	-	-	N	4	2	50.0
60	0.000	0.015	0.010		0.020	0.000	-	-	N	4	0	0.0
61	0.004	0.000	0.000	1.120	0.261	0.000	-	-	N	4	2	50.0
62	0.000	0.047	0.000	0.304	0.055	0.000	-	-	N/D	4	1	25.0
63	0.574	0.002	0.004	0.018	0.012	0.001	-	-	N	4	0	0.0
64	0.000	0.000	0.015	0.000	0.007	0.000	-	-	N	4	0	0.0
65	0.003	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	-	-	N	4	0	0.0
66	0.005	0.000	1.451	0.173	0.045	0.005	-	-	N	4	1	25.0
67	0.011	0.000	0.020	0.011	0.007	0.000	-	-	N	4	0	0.0
68	0.000	0.040	0.499	0.891	0.185	0.000	-	-	N	4	2	50.0
69	0.000	0.003	0.023	0.019	0.001	0.003	-	-	N	4	0	0.0
70	0.000	0.000	0.323	0.064	0.013	0.000	-	-	N	4	1	25.0
71	0.000	0.007	0.021	0.057	0.012	0.000	-	-	N	4	0	0.0
72	1.125	0.001	0.070	0.178	0.162	0.000	-	-	N	4	0	0.0

CÓDIGO: Y= SI
 N= NO
 N/D= NO REALIZADO
 *= PROCESO
 INFLAMATORIO
 ML=MIELOIDE
 ~= ARTEFACTO
 YYY= FOTO
 ME= MIELOIDE+ERITROIDE
POSITIVO

TABLA 2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "B"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	TUMORES EN TRÁQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	PRUEBAS TOTALES	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
73	0.002	0.011	0.001	0.063	0.000	0.063	-	-	N	4	0	0.0
74	0.002	0.003	0.000	0.039	0.001	0.000	-	-	*	4	0	0.0
75	0.000	0.002	0.012	0.011	0.000	0.000	-	-	N	4	0	0.0
76	0.000	0.729	0.480	0.003	0.004	0.000	-	-	N	4	2	50.0
77	0.648	0.337	0.557		0.978	0.987	+	-	YME	4	4	100.0
78	0.011	0.466	0.759		0.017	0.000	-	-	N	4	2	50.0
79	1.784	0.450	1.101		0.061	0.000	-	-	N	4	2	50.0
80	0.001	0.002	0.004		0.000	0.000	-	-	N	4	0	0.0
81	0.000	1.089	0.434		0.028	0.000	-	-	N	4	2	50.0
82	0.374	1.602	1.942		0.000	0.000	-	-	N*	4	2	50.0
83	0.000	0.185	0.413		0.009	0.000	-	-	N	4	1	25.0
84	0.000	1.266	0.000		0.000	0.000	-	-	N	4	1	25.0
85	0.000	0.969	0.603		0.000	0.000	-	-	N	4	2	50.0
86	0.000	0.011	0.007		0.000	0.000	-	-	N	4	0	0.0
87	0.953	0.000	0.000		0.001	0.001	-	-	N	4	0	0.0
88	0.000	0.739	0.830		0.000	0.000	-	-	N	4	1	25.0
89	1.889	1.213	1.015		0.655	0.000	+	-	Y	4	3	75.0
90	1.451	1.076	0.968		0.000	0.000	-	-	N	4	2	50.0
91	0.000	0.002	0.001		0.125	0.000	-	-	N/D	4	0	0.0
92	0.000	0.007	0.000		0.006	0.000	-	-	N	4	0	0.0
93	1.057											
94	1.778											
95	0.000											
96	0.000											

CÓDIGO: Y= SI
N= NO
N/D= NO REALIZADO
*= PROCESO INFLAMATORIO
ML=MIELOIDE
~= ARTEFACTO
YYY= FOTO
ME= MIELOIDE+ERITROIDE
POSITIVO

TABLA 2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "B"

AVE #	ALBUMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMEN S/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	TUMORES EN TRAQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	PRUEBAS TOTALES	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
87	0.002											
98	1.747											
99	0.000											
100	0.000											
101	0.000											
102	0.002											
103	0.006											
104	0.000											
105	0.000											
106	0.474											
107	0.001											
108	0.504											
109	0.709											
110	1.978											
111	0.001											
112	0.000											
113	0.000											

CÓDIGO:

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

*=- PROCESO

INFLAMATORIO

ML=MIELOIDE

*- ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ERITROIDE

POSITIVO

TABLA 2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "B"

AVE #	ALBÚMINA S/P	PLASMA S/P	SUERO S/P	SEMENS/P	H. CLOACALES 4°C S/P	H. VAGINALES 4°C S/P	TUMORES EN TRAQUEA	TUMORES EN CLOACA	LEUCEMIA	PRUEBAS TOTALES	PRUEBAS (+)	% DE PRUEBAS (+)
114	0.000											
115	0.000											
116	0.000											
117	0.000											
118	0.000											
119	0.000											
120	0											
TOT*	29	26	44	3	20	19	9	2				
%(+)	24.17	28.26	47.83	18.75	21.74	20.65	9.78	2.17				
% ESTUCHE (A)	26.67	30.43	32.61	25	29.35	19.57	9.78	2.17				

CÓDIGO:

Y= SI

N= NO

N/D= NO REALIZADO

~= PROCESO

INFLAMATORIO

ML=MIELOIDE

~= ARTEFACTO

YYY= FOTO

ME= MIELOIDE+ERITROIDE

POSITIVO

TABLA 2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE ELISA, ESTUCHE COMERCIAL "B"

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prueba estadística de Ji cuadrada permite comparar resultados entre dos poblaciones, el Análisis de Varianza es una técnica mediante la cual la variación total presente en un conjunto de datos se distribuye en varios componentes. Con cada uno de dichos componentes existe una fuente de variación y mediante el análisis es posible conocer cuánto contribuye cada una de estas fuentes a la variación total. El análisis de varianza se usa con dos fines, a) estimar y probar hipótesis acerca de varianzas de poblaciones y b) estimar y probar hipótesis de medias de población (33). En el presente estudio se decidió recurrir, tanto a la prueba de Ji cuadrada, como al Análisis de Varianza mediante comparación de medias de positivos para establecer diferencias estadísticamente significativas entre ambas poblaciones y evaluar únicamente a las aves positivas por medio del análisis de varianza, dichas poblaciones están señaladas en los Objetivos de este experimento y se detallan a continuación.

Plasma vs. Suero, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
Plasma	28	63
Suero	30	61

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Plasma $\bar{X} = 0.595 \pm 0.143$

Suero $\bar{X} = 0.642 \pm 0.191$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar plasma con suero, el resultado es que no hay diferencia estadística significativa ni en la prueba Ji cuadrada ni en la comparación de medias de títulos positivos. Lo anterior, para fines prácticos, quiere decir que tanto para la obtención de un resultado positivo, como para la obtención de un título alto, no existe diferencia si deseamos analizar plasma o suero mediante la inmunoadsorción ligada a enzimas.

Hisopos cloacales 4°C vs. Hisopos cloacales -20°C, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
4°C	27*	64*
-20°C	43*	48*

* χ^2 $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

$$4^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.483 \pm 0.126$$

$$-20^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.624 \pm 0.124$$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos cloacales conservados a 4°C con los conservados a -20°C se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa en la prueba Ji cuadrada lo cual sugiere que las muestras obtenidas en campo sean conservadas a -20°C y no a 4°C. Al comparar medias de títulos positivos no se obtuvo diferencia estadística significativa, lo cual quiere decir que para la obtención de un título alto no importa el método de conservación pero cabe señalar que al considerar el punto anterior, es decir, que se sugiere que las muestras se conserven a -20°C, el resultado de la comparación de medias pierde importancia para cuestiones prácticas.

Hisopos vaginales 4°C vs. Hisopos vaginales -20°C, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
4°C	18	44
-20°C	18	44

χ^2 $p < 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

$$4^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.510 \pm 0.118$$

$$-20^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.615 \pm 0.141$$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos vaginales conservados a 4°C con los conservados a -20°C, no se encontró diferencia estadística significativa ni en la prueba Ji cuadrada ni en la comparación de medias de títulos positivos. Para aplicaciones prácticas, esto

Hisopos cloacales 4°C vs. Hisopos cloacales -20°C, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
4°C	27*	64*
-20°C	43*	48*

* χ^2 $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

$$4^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.483 \pm 0.126$$

$$-20^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.624 \pm 0.124$$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos cloacales conservados a 4°C con los conservados a -20°C se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa en la prueba Ji cuadrada lo cual sugiere que las muestras obtenidas en campo sean conservadas a -20°C y no a 4°C. Al comparar medias de títulos positivos no se obtuvo diferencia estadística significativa, lo cual quiere decir que para la obtención de un título alto no importa el método de conservación pero cabe señalar que al considerar el punto anterior, es decir, que se sugiere que las muestras se conserven a -20°C, el resultado de la comparación de medias pierde importancia para cuestiones prácticas.

Hisopos vaginales 4°C vs. Hisopos vaginales -20°C, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
4°C	18	44
-20°C	18	44

χ^2 $p < 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

$$4^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.510 \pm 0.118$$

$$-20^\circ\text{C} \quad \bar{X} = 0.615 \pm 0.141$$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos vaginales conservados a 4°C con los conservados a -20°C, no se encontró diferencia estadística significativa ni en la prueba Ji cuadrada ni en la comparación de medias de títulos positivos. Para aplicaciones prácticas, esto

quiere decir que se puede elegir cualquiera de los dos métodos de conservación para hisopos vaginales, refrigeración (4°C) o congelación (-20°C).

Plasma C/E vs. C/O, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
Plasma C/E	12	79
Plasma C/O	17	74

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Plasma C/E $\bar{X} = 0.631 \pm 0.272^*$

Plasma C/O $\bar{X} = 0.332 \pm 0.096^*$

* $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar el primer cultivo de fibroblastos de embrión de pollo C/E con C/O, no se obtuvo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero si la hubo al comparar las medias de los títulos positivos. Esto quiere decir que para detectar animales positivos aparentemente no tiene importancia que tipo de fibroblastos se empleen, C/E o C/O, pero ya que en la comparación de medias sí hubo una diferencia estadística significativa a favor de las células C/E, se sugiere emplear este tipo de células debido a que presentan una mayor sensibilidad.

Plasma2 (Segundo Cultivo de Tejidos) C/E vs. C/O, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
Plasma2 C/E	13	78
Plasma2 C/O	10	81

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Plasma2 C/E $\bar{X} = 0.579 \pm 0.245^*$

Plasma2 C/O $\bar{X} = 0.458 \pm 0.201^*$

* $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar el segundo cultivo de fibroblastos de embrión de pollo C/E con C/O, no se obtuvo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada ni al

comparar las medias de los títulos positivos. Considerando los resultados obtenidos a partir del primer cultivo de tejidos, no se sugiere realizar un segundo cultivo de fibroblastos ya que las células C/E mostraron una menor sensibilidad comparando con el primer cultivo.

Hisopos cloacales 4°C vs. Hisopos vaginales 4°C, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
Hisopos cloacales 4°C	18	44
Hisopos vaginales 4°C	18	44

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

H. cloacales 4°C $\bar{X} = 0.451 \pm 0.080$

H. vaginales 4°C $\bar{X} = 0.510 \pm 0.118$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos cloacales conservados a 4°C con hisopos vaginales conservados a 4°C, no hubo diferencia estadística significativa ni en la prueba Ji cuadrada ni en la comparación de medias de títulos positivos por lo que resulta indistinto el tipo de muestra (hisopos cloacales o vaginales) que se tome en campo empleando la refrigeración a 4°C como método de conservación de muestras.

Hisopos cloacales -20°C vs. Hisopos vaginales -20°C, estuche comercial (A)

	(+)	(-)
Hisopos cloacales -20°C	27*	35*
Hisopos vaginales -20°C	18*	44*

* χ^2 $p < 0.1$ Si hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

H. cloacales -20°C $\bar{X} = 0.693 \pm 0.181$

H. vaginales -20°C $\bar{X} = 0.615 \pm 0.142$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos cloacales conservados a -20°C con hisopos vaginales conservados a -20°C , sí hubo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero no así en la comparación de medias de títulos positivos por lo que en campo se sugiere tomar muestras de la cloaca y no de la vagina.

Plasma vs. Suero, estuche comercial (B)

	(+)	(-)
Plasma	27*	65*
Suero	44*	48*

* χ^2 $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Plasma $\bar{X} = 0.869 \pm 0.178$

Suero $\bar{X} = 0.902 \pm 0.187$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar plasma con suero, el resultado es que sí hay diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero no así en la comparación de medias de títulos positivos. Lo anterior quiere decir que se sugiere analizar suero mediante la inmunoadsorción ligada a enzimas.

Hisopos cloacales 4°C vs. Hisopos vaginales 4°C , estuche comercial (B)

	(+)	(-)
Hisopos cloacales 4°C	20	72
Hisopos vaginales 4°C	19	73

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

H. cloacales 4°C $\bar{X} = 1.013 \pm 0.220$

H. vaginales 4°C $\bar{X} = 0.938 \pm 0.238$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar hisopos cloacales conservados a 4°C con hisopos vaginales conservados a 4°C , no hubo diferencia estadística significativa ni en la prueba Ji cuadrada ni en la comparación de medias de títulos positivos por lo que resulta

indistinto el tipo de muestra (hisopos cloacales o vaginales) que se tome en campo empleando la refrigeración a 4°C como método de conservación de muestras.

Debido a que el resto de las muestras a evaluar con el estuche comercial "B", es decir, hisopos cloacales conservados a -20°C, hisopos vaginales conservados a -20°C y cultivo de tejidos se dañaron, no fueron incluidas en los resultados del estudio.

Albúmina estuche comercial A vs. Albúmina estuche comercial B

	(+)	(-)
Albúmina estuche comercial A	33	87
Albúmina estuche comercial B	29	91

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Albúmina estuche comercial A $\bar{X} = 0.715 \pm 0.182^*$

Albúmina estuche comercial B $\bar{X} = 1.232 \pm 0.224^*$

* $p < 0.001$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar muestras de albúmina entre los estuches comerciales de inmunoadsorción ligada a enzimas "A" y "B", no hubo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero si hubo diferencia estadística significativa en la comparación de medias de títulos positivos. Esto quiere decir que aunque parecería no importar qué estuche comercial se elija pues ambos detectan un número similar de animales positivos, se sugiere emplear el estuche comercial "B" para muestras de albúmina ya que mostró ser más sensible que el estuche comercial "A".

Plasma estuche comercial A vs. Plasma estuche comercial B

	(+)	(-)
Plasma estuche comercial A	28	64
Plasma estuche comercial B	27	65

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Plasma estuche comercial A $\bar{X} = 0.595 \pm 0.143^*$

Plasma estuche comercial B $\bar{X} = 0.869 \pm 0.178^*$

* $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar muestras de plasma entre los estuches comerciales de inmunoadsorción ligada a enzimas "A" y "B", no hubo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero si hubo diferencia estadística significativa en la comparación de medias de títulos positivos. Esto quiere decir que aunque parecería no importar qué estuche comercial se elija pues ambos detectan un número similar de animales positivos, se sugiere emplear el estuche comercial "B" para muestras de plasma ya que mostró ser más sensible que el estuche comercial "A".

Suero estuche comercial A vs. Suero estuche comercial B

	(+)	(-)
Suero estuche comercial A	30*	62*
Suero estuche comercial B	44*	48*

* χ^2 $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Suero estuche comercial A $\bar{X} = 0.641 \pm 0.191^*$

Suero estuche comercial B $\bar{X} = 0.902 \pm 0.187^*$

* $p < 0.05$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar muestras de suero entre los estuches comerciales de inmunoadsorción ligada a enzimas "A" y "B", sí hubo diferencia estadística

significativa tanto en la prueba Ji cuadrada como en la comparación de medias de títulos positivos. Esto sugiere emplear el estuche comercial "B" ya que mostró ser más sensible que el estuche comercial "A".

Semen estuche comercial A vs. Semen estuche comercial B

	(+)	(-)
Semen estuche comercial A	4	12
Semen estuche comercial B	3	13

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Semen estuche comercial A $\bar{X} = 1.838 \pm 3.047$

Semen estuche comercial B $\bar{X} = 0.772 \pm 1.045$

$p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Al comparar muestras de semen entre los estuches comerciales de inmuoadsorción ligada a enzimas "A" y "B", no hubo diferencia estadística significativa ni en la prueba Ji cuadrada ni en la comparación de medias de títulos positivos. Esto quiere decir que no importa qué estuche comercial se elija para muestras de semen, "A" o "B", pues ambos detectan un número similar de animales positivos.

Hisopos cloacales 4°C estuche comercial A vs. Hisopos cloacales 4°C estuche comercial B

	(+)	(-)
Hisopos cloacales 4°C estuche comercial A	27	65
Hisopos cloacales 4°C estuche comercial B	20	72

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Hisopos cloacales 4°C estuche comercial A $\bar{X} = 0.482 \pm 0.126^*$

Hisopos cloacales 4°C estuche comercial B $\bar{X} = 1.014 \pm 0.220^*$

* $p < 0.001$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar muestras de hisopos cloacales conservados a 4°C entre los estuches comerciales de inmunoadsorción ligada a enzimas "A" y "B", no hubo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero sí hubo diferencia estadística significativa en la comparación de medias de títulos positivos. Esto quiere decir que aunque parecería no importar que estuche comercial se elija pues ambos detectan un número similar de animales positivos, se sugiere emplear el estuche comercial "B" para muestras de hisopos cloacales conservados a 4°C ya que mostró ser más sensible que el estuche comercial "A".

Hisopos vaginales 4°C estuche comercial A vs. Hisopos vaginales 4°C estuche comercial B

	(+)	(-)
Hisopos vaginales 4°C estuche comercial A	18	44
Hisopos vaginales 4°C estuche comercial B	18	44

χ^2 $p > 0.05$ No hay diferencia estadística significativa

Comparación de medias de (+)

Hisopos vaginales 4°C estuche comercial A $\bar{X} = 0.510 \pm 0.118^*$

Hisopos vaginales 4°C estuche comercial B $\bar{X} = 0.970 \pm 0.243^*$

* $p < 0.001$ Si hay diferencia estadística significativa

Al comparar muestras de hisopos vaginales conservados a 4°C entre los estuches comerciales de inmunoadsorción ligada a enzimas "A" y "B", no hubo diferencia estadística significativa en la prueba Ji cuadrada pero si hubo diferencia estadística significativa en la comparación de medias de títulos positivos. Esto quiere decir que aunque parecería no importar que estuche comercial se elija pues ambos detectan un número similar de animales positivos, se sugiere emplear

el estuche comercial "B" para muestras de hisopos vaginales conservados a 4°C ya que mostró ser más sensible que el estuche comercial "A".

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

DISCUSIÓN

La prueba de ELISA es rápida y práctica lo cual concuerda con *Smith et al*, 1979 y *Tsukamoto et al*, 1985. En el presente estudio se encontró, mediante la detección de antígeno por medio de ELISA, que las aves infectadas con virus de leucosis eliminan virus por diversas vías, esto concuerda con *Spencer*, 1984. El hecho de obtener aves positivas a la infección por medio de ELISA a partir de muestras de plasma, suero, hisopos cloacales y/o hisopos vaginales no necesariamente quiere decir que son aves positivas a virus infeccioso, lo anterior concuerda con *Zavala*, 1998. Para detectar específicamente el virus J de leucosis es necesario realizar pruebas adicionales a ELISA, por ejemplo, la prueba de reacción en cadena de la polimerasa, PCR por sus siglas en inglés, lo cual concuerda con varios investigadores como *Smith et al*, 1997, *Venugopal et al*, 1998, *Benson et al*, 1998, *Fadly*, 2000 y *García et al*, 2000. Aunque no se encontró literatura donde se mencionen los resultados de ELISA a partir de la utilización de las células C/E, sí se ha señalado previamente (*Zavala*, 1998) que la combinación de pruebas diagnósticas en conjunto con el historial de la parvada es importante para poder establecer un diagnóstico y un criterio de selección de aves a nivel de reproductores primarios.

COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La hipótesis no fue comprobada ya que sí existieron diferencias estadísticamente significativas para sensibilidad y/o especificidad entre los dos estuches comerciales "A" y "B" para inmunoadsorción ligada a enzimas.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, se sugiere lo siguiente:

- tomar muestras de suero y no de plasma para la detección de aves positivas al VLA mediante inmunoadsorción ligada a enzimas;
- llevar a cabo toma de muestras de hisopos cloacales y conservar dichas muestras a -20°C hasta su procesamiento para su posterior utilización en el laboratorio;
- utilización de células C/E para la detección de animales infecciosos (virus exógenos) y poder tener un criterio real para decidir eliminar o no a las aves adecuadas;
- utilización de estuches comerciales B de inmunoadsorción ligada a enzimas, ya que mostraron una mayor sensibilidad y especificidad para la detección del VLA.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Zavala, G. A new challenge for the poultry industry myeloid leukosis. Vineland Update: No. 61. April, 1998.
2. Zavala, G. Leucosis en reproductores pesados. Memorias del Seminario: Principales Enfermedades Aviares de Cara al Siglo XXI; 1998 Septiembre 18; Tehuacán (Puebla) México, 1998.
3. Witter, RL. Avian tumor viruses: Persistent and evolving pathogens. Acta Veterinaria Hungarica 1997; 45 (3) 251-266.
4. Venugopal K, Payne N. Leucosis J una infección en pavos: inducción a un comienzo rápido de tumores por acción de una cepa transformadora 966. Avian Pathology 2000; 29:319-325.
5. Venugopal K, Howes K, Barron GS, Payne LN. Recombinant env-gp85 of HPRS-103 (Subgroup J) Avian leukosis virus: Antigenic characteristics and usefulness as a diagnostic reagent. Avian Diseases 1997; 41:283-288.
6. Payne LN. La aparición de leucosis mieloide causada por el virus de leucosis aviar subgrupo J. Memorias del curso de actualización en leucosis aviar y enfermedad de Marek; 1998 Febrero 20; México (DF) México, 1998:26-29.
7. Lovell, EJ. Perspectiva de campo del virus de leucosis aviar subgrupo J, problemas en Norte y Sudamérica. Memorias del curso de actualización en leucosis aviar y enfermedad de Marek; 1998 Febrero 20; México (DF) México, 1998:30-32.
8. Dren, CS. Enfermedades neoplásicas en aves: ¿Dónde estamos y qué podemos hacer con ellas? Memorias del curso de actualización en leucosis aviar y enfermedad de Marek; 1998 Febrero 20; México (DF) México, 1998:3-7

9. Rebollo, MA, Higuera S. Situación actual en México de problemas linfoproliferativos en avicultura. Memorias del curso de actualización en leucosis aviar y enfermedad de Marek; 1998 Febrero 20; México (DF) México, 1998:1-2.
10. García, J. Características específicas de la enfermedad de Marek y la leucosis aviar. Memorias del curso de actualización en leucosis aviar y enfermedad de Marek; 1998 Febrero 20; México (DF) México, 1998:3-7.
11. Calnek BW, editor. Diseases of Poultry. 9th ed. Iowa State University Press, 1991.
12. Calnek, BW. Lymphoid Leukosis Virus: a survey of commercial breeding flocks for genetic resistance and incidence of embryo infection. 39th Annual Northeastern Conference on Avian Diseases, State University of New York at Stony Brook, Long Island, New York, June 19-21. 1967.
13. Spencer, JL. Progress Towards Eradication of Lymphoid Leukosis Viruses – A Review. Avian Pathology, 13: 599-619, 1984.
14. Smith, EJ, Fadly, A. and Okazaki, W. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detecting avian leucosis-sarcoma viruses. Avian Diseases vol. 23 no. 3
15. Smith, EJ, Fadly, AM and Crittenden, LB. Observations on an Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against avian leucosis-sarcoma viruses. Avian Diseases Vol. 30 no. 3.
16. Tsukamoto, K, Kono, Y, Arai, K, Kitahara, H and Takahashi, K. An Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to exogenous avian leucosis virus. Avian Diseases vol. 29 no. 4
17. Payne, LN, Brown, SR, Bumstead, N, Howes, K, Frazier, JA and Thouless, ME. A novel subgroup of exogenous avian

leucosis virus in chickens. *Journal of General Virology* (1991), 72, 801-807.

18. Smith, EJ, Williams, SM and Fadly, AM. Detection of avian leucosis virus subgroup J using the polymerase chain reaction. *Avian Diseases* 42:375-380,1998.
19. Venugopal, K, Smith, LM, Howes, K and Payne, LN. Antigenic variants of J subgroup avian leukosis virus: sequence analysis reveals multiple changes in the *env* gene. *Journal of General Virology* (1998), 79, 757-766.
20. Scott, JB, Ruis, BL, Fadly, AM and Conklin, KF. The unique envelope gene of the subgroup J avian leukosis virus derives from ev/J Proviruses, a novel family of avian endogenous viruses. *Journal of Virology*, 1998, 10157-10164.
21. Fadly, AM. Isolation and identification of avian leukosis viruses: a review. Technical review. ©2000 Houghton Trust Ltd.
22. Payne, LN. History of ALV-J. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 3-12.
23. Silva, RF and Fadly, AM. Evolution of ALV-J strains. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 23-31.
24. Hunt, H, Lupiani, B, and Fadly, AM. Recombination between ALV-J and endogenous subgroup E viruses. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 50-60.

25. Weikel, J, Zeller-Lue, C, Buck, F and Czerny, CP. Myelocytomatosis in German broiler production. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 61-62.
26. Brown, TP, Stedman, N and Pantin-Vera, M. Mechanisms of decreased growth in broiler chickens congenitally infected with avian leukosis-subgroup J virus. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 63-66.
27. Bacon, LD. Production of neutralizing antibody to ALV-J differs in aged hens from seven B-congenic white leghorn lines. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 115-126.
28. Koch, G, Vaan Der Velde, J, Hartog, L, Gielkens, ALJ and Landman, WJM. Horizontal and vertical transmission of ALV-J and ALV-A virus in broiler breeder chickens. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 141-151.
29. Neumann, U, Berrocal, A and Fadly, AM. Morphological evidence for avian leukosis virus (ALV) subgroup J avian myelocytomatosis observed in broiler parent flocks in Costa Rica. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian retroviruses. Rauschholzhausen, Germany, 5-8 June 2000, 181-183.
30. Witter, RL. Determinants of early transmission of ALV-J in commercial broiler breeder chickens. Proceedings from the International Symposium on ALV-J and other avian