



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

36
Lij

“EVALUACION SEROLOGICA DE LA ENFERMEDAD DE
NEWCASTLE E INFLUENZA AVIAR EN POLLO DE
ENGORDA EN UNA EXPLOTACION COMERCIAL,
UTILIZANDO VACUNA COMERCIAL EMULSIONADA
BIVALENTE”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:
EDUARDO EMILIO LUNA CRUZ



Asesores: M.V.Z. EMILIO REYES SANCHEZ
M.V.Z., M.P.V.M., Ph. D. ANIEL ORTIZ MURIZ
Consejer: M.V.Z., M.C. BENITO LOPEZ BAÑOS

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1966.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

Al Sr. Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Evaluación serológica de la enfermedad de Newcastle e influenza aviar en pollo de engorda en una explotación comercial, utilizando vacuna comercial emulsionada bivalente "

que presenta al pasante: Eduardo Emilio Luna Cruz
con número de cuenta: 2201556-1 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Zootecnista .

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 15 de Enero de 1996

PRESIDENTE	Ph.D. Ariel Ortiz Muñoz	
VOCAL	M. en C. Raúl Nor Cruz	
SECRETARIO	MVZ. Juan Ponroy Juárez	
PRIMER SUPLENTE	M. en C. Alejandro Martínez Rodríguez	
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Marco Antonio Mendoza Saavedra	

DEDICATORIA.

A MI MAMA FELIX: por haber estado en todo momento cerca de mi para guiarme por la vida, por saber como llamarnos la atención cuando nos portamos mal y simplemente porque eres mi Mamá..

A MI PADRE EMILIO: quien dedicó tantos años a una sola cosa: su trabajo, para que a nosotros nunca nos faltara nada; a ti gracias, porque durante mucho tiempo te vi como un extraño y hasta hace poco tiempo me he sentido con más confianza.

A MI HERMANA MARCELA: por ser estar siempre dispuesta a escuchar una platica seria o una cosa sin importancia, gracias Doctora.

A MI HERMANO JAIME: por ser un buen hermano, claro, cuando no estas enojado.

A AUDREY: Tú has sido durante este tiempo mi mejor amiga y una excelente pareja, me has dado tu apoyo y cariño incondicional en todo momento, gracias. Te quiero mucho, y tu lo sabes

A REMI: por ser una gran amiga en la secundaria y en la actualidad..

AGRADECIMIENTOS.

MVZ. MPVM, Ph D. ARIEL. ORTÍZ MEÑÍZ. Gracias por su apoyo para la realización del servicio social y esta tesis, y por su amistad, gracias

MVZ. EMILIO REYES SÁNCHEZ. Gracias por haberme brindado la oportunidad de realizar esta tesis sin conocerme, permitirme ver de cerca el medio avícola y brindarme su amistad durante todo este tiempo. Espero que sigamos llevándonos tan bien.

Mi más sincero agradecimiento a dos personas que compartieron sus conocimientos acerca del manejo de los pollos y que me auxiliaron en la recolección de las muestras para la realización de este trabajo, Sr. Saulo Irineo M. y Sr. Taurino Miranda D., encargados de las granjas donde trabaje.

MVZ. JAIME GONZÁLEZ de Laboratorio AVIMEX, por su apoyo para el envío y procesamiento de las muestras de suero.

MVZ. DIANA O. VAQUEZ AVALOS y MVZ. MARÍA EUGENIA ARANDA de Diagnósticos Clínicos Veterinarios S.A. de C.V., por permitirme entrar al laboratorio de diagnóstico a aprender la técnica de IH, base de esta tesis.

A la UNAM, y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan.

INDICE.

	Pp
Resumen.....	1
Introducción	3
Objetivos	17
Material y métodos	19
Resultados	24
Discusión	39
Conclusiones	42
Recomendaciones.....	44
Bibliografía	46

RESUMEN.

RESUMEN.

LUNA CRUZ EDUARDO EMILIO, Evaluación de la Enfermedad de Newcastle e Influenza Aviar en pollo de engorda en una explotación comercial, utilizando vacuna comercial emulsionada bivalente. Asesores: Reyes Sánchez Emilio, MVZ; Ortíz Muñíz Ariel, MVZ. MPVM. Ph D.

Se evaluó la eficacia inmunológica de antígenos inactivados y emulsionados preparados con virus de la enfermedad de Newcastle (ENC) e influenza aviar (IA), usando una vacuna monovalente (ENC) y dos vacunas bivalentes (ENC + IA), y se elaboraron las curvas de anticuerpos vacunales contra IA de las vacunas bivalentes. Se utilizaron 40 pollos de engorda (Ross X Ross) de un día de edad; se formaron cuatro grupos, que fueron alojados dentro de dos casetas comerciales en corrales (dos grupos por caseta). Las aves se inmunizaron a los 8 días de edad, dos grupos con las vacunas bivalentes y los restantes con la vacuna monovalente; además se aplicó una vacuna contra ENC virus vivo por vía ocular. Muestras sanguíneas fueron tomadas a los 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días de edad para efectuar la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (IH). Los resultados fueron analizados por análisis de varianza.

La vacuna B indujo títulos de anticuerpos más altos contra IA, a edad más temprana. Gráficamente se observaron títulos de anticuerpos más altos contra ENC en las aves vacunadas con antígeno monovalente; con el análisis de varianza se encontró que esta diferencias no eran significativas. Se realizaron dos curvas de anticuerpos vacunales contra IA, observándose un comportamiento muy diferente en ambas vacunas.

INTRODUCCIÓN.

INTRODUCCION.

En la actualidad, la industria avícola ha tenido un gran desarrollo para la producción de carne y huevo para consumo. Esto se debe a los avances en genética y nutrición, así como la creación de nuevos sistemas de manejo en la producción [25,29].

A raíz de la intensificación de los sistemas de producción, se han modificado la presentación, epizootiología, medidas de detección y control de enfermedades de las aves. Actualmente es más frecuente encontrar cuadros clínicos con etiologías mixtas que confunden a los médicos veterinarios, como sucedió en los primeros brotes de influenza aviar (IA) que se dieron en México, lo que permitió que la enfermedad se difundiera [26].

El virus de la influenza ha provocado grandes pérdidas económicas en las especies domésticas, por el uso de medicamentos, alimento extra, cuidados adicionales, medidas de cuarentena, vacuna, disminución de la calidad de la canal, limpieza y sanidad, y pérdida comercial local e internacional [14].

Se han reportado cinco grandes brotes de IA a nivel mundial:

1. USA: 1929.
2. Australia: 1975-1985.
3. Inglaterra: 1979.
4. USA: 1983-1984.
5. Irlanda: 1983-1984 [14,36].

En los años de 1981 y 1982 Tlacomulco, trabajó sueros sanguíneos de gallinas de postura comercial, pollo de engorda, reproductoras y progenitoras de las principales zonas avícolas de México que resultaron negativas [13,30,31].

Durante el otoño e invierno de 1993, en algunas zonas del país se presentaron problemas respiratorios en pollos mayores de 5 semanas, con mortalidades de 15-20% por agentes bacterianos secundarios. En aves de postura también se presentaron problemas respiratorios, acompañados de baja de postura (5-15%) [3,13,31].

En Diagnósticos Clínicos Veterinarios S.A. de C.V., se realizó el primer aislamiento de virus de influenza aviar por Gay y col., a partir de muestras de pulmón y tráquea de pollo de engorda procedentes de granjas de los estados de Querétaro, Hidalgo y México. Estas muestras fueron remitidas para el aislamiento de virus de laringotraqueítis aviar (LT) y/o bronquitis infecciosa (BI). El virus de BI fue positivo en la prueba de hemoaglutinación en placa (tres muestras de fluido aminoalantoideo). Por lo tanto, se realizó una prueba de inhibición de la hemoaglutinación con antisuero específico al virus de la enfermedad de Newcastle (ENC), el cual no fue capaz de inhibir la actividad hemoaglutinante del agente aislado. No se pudo realizar el aislamiento de virus de BI [17].

Con las muestras sospechosas se prepararon tinciones negativas para su observación al microscopio electrónico. Se determinó la presencia de partículas virales esféricas y pleomórficas con proyecciones o espículas, y un centro electrodenso, características estructurales de la familia Orthomyxoviridae. Los resultados indicaron que se trataba de un virus de influenza tipo A o B [17].

Se obtuvo el permiso de la Dirección General de Salud Animal (DGSA) para importar sueros específicos de ENC, IA de grupo, y de los serotipos H³ y H⁷ de IA provenientes del United States Department of Agriculture (USDA). Las muestras fueron negativas al antígeno de ENC y H⁷ de IA, pero positivas a los antígenos de IA de grupo y H³ [17].

El 23 de mayo de 1994 se notificó oficialmente a la DGSA el aislamiento de tres cepas de virus de influenza aviar procedentes de granjas avícolas de los estados de Querétaro, Hidalgo y México las cuales fueron tipificadas posteriormente como H³ N² de baja patogenicidad [2,13,31].

El 24 de mayo de 1994, se entregaron los aislamientos a la Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (C.P.A.), para confirmar el diagnóstico y tipificar el virus [2,13,17,31].

El 25 de mayo de 1994, se confirmó en C.P.A. que se trataba del virus de IA tipo A y a través del Centro de Referencia de Ames, Iowa, E.U.A., influenza aviar suptipo H³ N² de baja patogenicidad [2,13,31].

El 30 de mayo de 1994, la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos entrega a la Unión Nacional de Avicultores el plan de trabajo para el operativo de control y erradicación de la influenza aviar en México, que contiene: investigación epidemiológica, diagnóstico, determinación de la magnitud del problema, prevención y control, vigilancia epidemiológica, requisitos de importación de aves y productos e instrumentos de apoyo [13,30].

De junio a diciembre de 1994 se realizó el monitoreo serológico y de aislamiento viral de granjas en todo el país, aislándose virus de baja patogenicidad en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Puebla, Querétaro, Veracruz y el Distrito Federal [2].

A finales de diciembre de 1994 fue detectada la presencia de un virus de IA de mediana patogenicidad en una granja de Tehuacán, Puebla habiéndose despoblado la sección donde se identificó el virus [2].

El 13 de enero fue confirmado el diagnóstico de IA, virus H₅ N₂ de alta patogenicidad en tres granjas de postura en Tehuacán, Puebla. En esta fecha también se reportó, en un núcleo de reproductoras en Querétaro, un cuadro sugestivo de IA de alta patogenicidad que posteriormente fue confirmado [2].

En Tepatlán, Jalisco se confirmó el diagnóstico de virus de mediana patogenicidad en ponedoras [2].

La influenza aviar es una infección, ocasionada por cualquier virus de influenza tipo A. Es una enfermedad altamente contagiosa que varía desde una infección leve o asintomática hasta una enfermedad aguda y fatal [6,9,12,14,32].

Etiología. El virus de la influenza aviar pertenece a la familia Orthomyxoviridae, que son virus envueltos RNA de cadena sencilla, pleomorfos de tamaño pequeño (80-120nm de diámetro), con proyecciones de glucoproteína de la envoltura que tienen actividad hemoaglutinante y de neuraminidasa [12,14,31,32,34].

Existen tres tipos de virus de influenza en la naturaleza: A, B y C, los cuales son clasificados de acuerdo a la naturaleza antigénica de la nucleoproteína y de los antígenos de la matriz. Los virus tipo B y C se encuentran sólo en el ser humano, y los tipo A afectan al ser humano, aves, cerdos, caballos y ocasionalmente otros mamíferos (terrestres y marinos) [12,14,32].

Los virus tipo A, están agrupados en subtipos en base a los antígenos de superficie, la hemoaglutinina y la neuraminidasa, de los cuales existen 13 y 9 diferentes respectivamente. La hemoaglutinina es la responsable de la fijación del virión a la célula huésped. La neuraminidasa destruye el ácido neuramínico presente en los receptores de la célula huésped, permitiendo la liberación de nuevos viriones [12,14,32,34,36].

Cada uno de los virus aislados en el mundo, recibe un nombre que debe incluir: tipo (A,B,C), huésped de origen (no aplicable en humanos), lugar de origen, número de cepa y año de aislamiento. Ejemplo: A/Chicken/Querétaro/14588/94 (H₃N₂) [12,14,32,37].

Existe una amplia variedad de virus de influenza, por el número de posibles combinaciones que pueden formarse al combinarse las hemoaglutininas y neuraminidasas. Por otro lado, los ortomixovirus tiene variaciones en su antigenicidad debido a mutaciones que ocasionan pequeños cambios en la hemoaglutinina o neuraminidasa; o por redistribución del genoma viral (compuesto por 8 segmentos) que se da cuando dos virus de influenza usan la misma célula para multiplicarse [14,34,36].

El virus de la influenza aviar posee una clasificación basada en la patogenicidad:

- Virus de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad (VIAAP). Es aquel virus que en condiciones de laboratorio, al ser inoculado en 8 pollos SPF es capaz de causar la muerte en 6 o más de las aves.
- Virus de influenza Aviar (VIA). Virus que al ser inoculado mata a menos del 75% de las aves [12,14,32].

El virus de la influenza aviar es sensible a los detergentes, su infectividad es destruida con formalina, cuaternarios de amonio, beta-propiolactona, ácidos diluidos, etc. En condiciones de campo, el virus es eliminado en las secreciones nasales y en las heces, por lo que se encuentra protegido y se dificulta su destrucción [14,34,36].

Epizootiología. Tanto las aves domésticas como las silvestres son susceptibles al virus de la influenza. Existe la hipótesis de que las aves de vida libre son las responsables de brotes de la enfermedad en las explotaciones comerciales; esta, se sustenta en que el virus ha sido aislado de aves de vida libre (principalmente patos), las cuales diseminan el virus por sus rutas migratorias. Pero en los brotes de Pensilvania (E.U.A.) y de Victoria (Australia), los aislamientos de virus de influenza hechos a partir de aves de vida libre nunca fueron altamente patógenos, aunque presentaban los mismos antígenos [12,14,24,32,34].

Transmisión. El virus es excretado por vía respiratoria, conjuntiva y heces, por lo tanto, los tipos de transmisión son el contacto directo de aves infectadas a aves susceptibles, y por contacto indirecto (vehículos repartidores de alimento, recolectores de la mortalidad, y los que transportan las aves al rastro) [14,24,34].

Periodo de incubación. Varía, dependiendo del subtipo de virus, la cantidad de virus presente y vía de exposición. Puede ser desde unas cuantas horas hasta siete días [14,32,36].

La morbilidad es del 100%. La mortalidad es variable, ya que depende de la cepa involucrada, edad de las aves susceptibles, así como de procesos patológicos ya existentes en la parvada (micoplasmosis, coccidiosis, estrés, etc.). En cepas de alta patogenicidad la mortalidad puede alcanzar hasta un 100% [6,14,36].

Signos clínicos. En algunas ocasiones puede darse la muerte súbita de los pollos. Las aves comienzan por disminuir su consumo de alimento, hay blefaroconjuntivitis, lagrimación excesiva, estornudo, disminución de la actividad e incremento de la mortalidad que puede duplicarse día a día hasta alcanzar un pico. Existe estornudo que aumenta paulatinamente y estertores traqueales muy evidentes, las aves tienen las plumas erizadas, edema de cabeza y cara, y diarrea [5,6,12,14,32,34,36].

Lesiones macroscópicas. Cuando en el brote está involucrado un virus de alta patogenicidad, generalmente no hay lesiones evidentes; puede haber edema en la cabeza, cianosis en cresta y barbillas. Las lesiones ocasionadas por virus de baja patogenicidad son más evidentes, y pueden confundirse con las provocadas por el Newcastle Velogénico Viscerotrópico. En estas infecciones se observa moco amarillo-viscoso a lo largo de la tráquea, la mucosa traqueal esta congestionada y a veces hemorrágica con exudado caseoso. Los sacos aéreos están opacos, generalmente cuando esta involucrada la enfermedad crónica respiratoria complicada. Los órganos internos como hígado, riñón, grasa coronaria y bazo presentan petequias; comunmente se observa equimosis y sufusiones en la unión del proventrículo con la molleja. La cianosis de la cresta y

barbillas es una de las lesiones más evidentes. En algunas aves se observan hemorragias en los tarsos [5,6,12,14,32,34,36].

Las lesiones histológicas son inespecíficas, como edema, hiperemia y hemorragias de los órganos afectados [5,14,36].

Diagnóstico. Se usan dos métodos para la detección de virus de influenza en las aves:

1. Aislamiento viral. Se realiza a partir de hisopos de exudado traqueal y/o cloacal de aves vivas, y de órganos como pulmón, tráquea, riñón y bazo. Una vez aislado el virus, este puede ser tipificado y realizarse pruebas de patogenicidad, estas últimas se realizarán en el Laboratorio de Alta Seguridad de la C.P.A.

2. Serología. Los sueros (de aves convalecientes) colectados son sometidos a la prueba de HI y precipitación en agar gel (PAG), utilizando exclusivamente los reactivos autorizados por la SAGAR. De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana de Emergencia para la Campaña Nacional contra la Influenza Aviar publicada en el Diario Oficial de la Federación del Miércoles 3 de Agosto de 1994: La prueba de HI se realizará con 4 UHA Log, siendo (+) todos los sueros que produzcan inhibición de la hemoaglutinación en la dilución 1:10 y continuando las diluciones 1:20, 1:40 y 1:80.

Interpretación: < 1:10 Negativo.

> 1:10 Positivo.

La prueba de PAG se interpretará como positiva cuando aparezca una línea de precipitado entre el pocillo que contiene el antígeno y el suero problema [11,13,27,33].

El diagnóstico diferencial debe hacerse con enfermedad de Newcastle, bronquitis infecciosa, enfermedad crónica respiratoria complicada y pasterelosis [12,14,32,36].

Tratamiento. Este va encaminado al control de infecciones bacterianas secundarias y enfermedad crónica respiratoria complicada [5].

Prevención. Esta se centra en evitar la entrada del virus de influenza a las explotaciones avícolas, y si este entra, evitar su difusión. Por otro lado se deben tratar de eliminar los agentes complicantes como toxinas en los alimentos, reproductores infectados con micoplasma e implantar o ser más estricto en la bioseguridad [5,12,14,32,36].

Actualmente está permitida la vacunación (vacuna con virus inactivado y emulsionada) de las aves contra influenza aviar en aquellas zonas donde está presente el virus. Dicha vacuna no previene la infección, pero reduce significativamente la mortalidad. Se ha discutido mucho acerca de esta medida, ya que puede favorecerse la mutación del virus de baja a alta patogenicidad [5,12,14,32,36].

La cepa vacunal autorizada en México es la A/CK/México/CPA-232/94 (H₂N₂), la cual es proporcionada por la PRONABIVE. La cepa utilizada como semilla madre es de baja patogenicidad [16].

En E.U.A. se usan vacunas contra IA con licencias limitadas, en particular en pavos. Las desventajas del uso de la vacuna son:

a) Durante los monitoreos serológicos, no es posible diferenciar entre los anticuerpos vacunales y los producidos por virus de campo.

b) Las aves vacunadas que son afectadas por IA excretan el virus, por lo tanto este no será eliminado de la población, lo que significa vivir con el virus [4].

Durante el brote de IA en Pennsylvania, cuando el virus mutó a altamente patógeno, se usaron vacunas con virus inactivado y emulsionado. Reproductoras pesadas, gallinas de postura, reproductoras ligeras y pollitas de reemplazo fueron vacunadas en las zonas cuarentenadas. Esta aves estuvieron expuestas al VIAAP de campo, presentaron signos de la enfermedad, pero la mortalidad no alcanzó niveles alarmantes y la producción no decayó [22].

Control y/o erradicación. El 3 de agosto de 1994 la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, por conducto de la Dirección General Jurídica y con fundamento en los artículos 35 fracciones VI y XXXVIII de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, 4o. fracciones I, III, V y XI, 12, 16, 18, 21, 22, 31, 32, 33, 34, 35, 44 y 47 de la Ley Federal de Sanidad Animal; 1o, 3o fracción II, 4o fracciones III y IX, 41 y 48 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 10 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y en base a los reportes sobre la presencia del virus de influenza aviar en el país, se expide la Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-005-ZOO-1994, para la Campaña Nacional contra la Influenza Aviar, 1994 [11,12].

El 23 de enero de 1995, mediante un acuerdo publicado en el Diario Oficial de la Federación se activó el Dispositivo Nacional de Emergencia en Sanidad Animal (DINESA), diagnóstico, prevención, control y erradicación de la Influenza Aviar, tomando como base, el aislamiento de virus de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad en el Estado de Puebla. [32,33].

El 16 de febrero de 1995, la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, implementa el Operativo de Emergencia para el Control y Erradicación de la Influenza Aviar.

Para efecto del operativo se distinguen las siguientes zonas:

- Libre: sin evidencia de la enfermedad.
- Zona 1, indemne.
- Zona 2, con aislamientos de virus de IA de baja patogenicidad y/o serología positiva a IA.
- Zona 3, con aislamientos de virus de IA de mediana o alta patogenicidad [31].

Actualmente para combatir la IA, se están poniendo en práctica las siguientes acciones:

a) Estrictas medidas de bioseguridad en las granjas, como: contar con equipo propio en cada granja y no intercambiarlo, mantener siempre tapados los silos del alimento y los tinacos del agua, arcos de desinfección para vehículos, baño con regadera para el acceso a granja, tapete sanitario de acceso a baños y casetas, ropa para interior de granja y toalla, trabajar todo dentro todo fuera, manejar apropiadamente la pollinaza y/o gallinaza y la mortalidad.

b) La gallinaza y pollinaza deben ser fermentadas por un lapso de tiempo de 48 horas como mínimo, la cual deberá salir de la granja encostalada o en camiones cubiertos con lona.

e) Vacunación controlada: únicamente se autorizará la elaboración de vacuna inactivada de IA, con la semilla producida por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. La Dirección General de Salud Animal otorgará la autorización de la vacuna a aquellos laboratorios que cumplan con los requisitos establecidos. La vacunación se autorizará a granjas, empresas o municipios en los que se justifique su aplicación.

d) Vigilancia epidemiológica: las acciones de vigilancia están enfocadas a determinar la presencia del virus de IA, por medio del monitoreo serológico y virológico constante, presencia de aves centinelas en las explotaciones comerciales. Recolección de muestras en rastros, aves de traspatio y aves silvestres por personal del DINESA.

e) Diagnóstico: las muestras colectadas deberán enviarse a los laboratorios aprobados por la Dirección General de Salud Animal (DGSA) o a cualquier otro que designe la misma.

f) Para la movilización de aves comerciales, se seguirán los lineamientos establecidos por La Norma Oficial Mexicana de Emergencia de la Campaña Nacional contra la IA.

g) Control: cuarentena de granjas afectadas, despoblación (sacrificio de aves de granjas afectadas), desinfección y centinelización.

h) Capacitación y difusión: curso "Simulacro I.A.", técnicas de diagnóstico de I.A., pláticas y conferencias a productores, material impreso y artículos promocionales [32,33].

Impacto económico.

a) VIABP. Es variable, ya que generalmente se encuentra asociado a otros agentes. En pollo de engorda afectaba principalmente en las últimas semanas del ciclo, incrementando la mortalidad hasta 15%, incremento en 70 a 200% los gastos por medicación, mortalidad de 2 a 5% en aves finalizadas y embarcadas, disminución del índice de producción de 10 hasta 50 puntos [6].

b) VIAAP. Mortalidad hasta del 13% en la primera semana del ciclo y 50% en el transcurso de 14 días postinfección con un pico de mortalidad en un día de 3.5% y caída en los índices de producción de entre 90 a 100 puntos [6].

OBJETIVOS.

OBJETIVOS:

- Elaborar una curva del título de anticuerpos vacunales contra influenza aviar (IA), para saber su comportamiento durante el ciclo productivo (56 días), en aves sin anticuerpos maternos.

- Comparar el título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle (ENC) de aves vacunadas con antígeno emulsionado bivalente (ENC + IA) y pollos vacunados con vacuna monovalente (ENC), para ver si existe diferencia en el título de anticuerpos contra ENC.

- Comparar el título de anticuerpos contra influenza aviar de aves vacunadas con dos antígenos emulsionados bivalentes elaborados por laboratorios diferentes.

MATERIAL

Y

MÉTODOS.

MATERIAL Y METODOS.

El presente trabajo fue realizado en la granja de pollo de engorda comercial "Lomas" de la Empresa Comercializadora El Escudo S.A. de C.V. La granja está ubicada en Saul Leven No. 22, Lomas de San Cristobal, Coacalco, Estado de México, a una altitud de 2,285 m.s.n.m., durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre de 1995.

Vacuna.

Se usó una vacuna comercial bivalente contra IA + ENC (virus muerto) emulsionada en aceite de Laboratorio Anchor S.A. de C.V. (vacuna A) y otra de Laboratorio AVIMEX, S.A. de C.V. (vacuna B), y una vacuna contra ENC (virus muerto), también emulsionada en aceite, elaborada por Rhone Mérieux S.A. de C.V. (Vacuna C). Además se usó una vacuna contra la ENC de virus vivo, cepa La Sota de Laboratorios Vineland.

Diseño Experimental.

Se utilizaron 40 pollitos de engorda de la estirpe Ross X Ross originarios de Monterrey, N.L., de un día de edad. Se hicieron 4 grupos (2 en cada caseta) de 10 aves cada uno, denominados como Grupo 1 (caseta 11), Grupo 2 (caseta 12) y 2 Grupos Controles. El Grupo 1 se inmunizó con la vacuna A de acuerdo al siguiente calendario:

VACUNA	TIPO	VIA	DOSIS	EDAD
ENC + IA	Emulsión	Subcutánea	0.5ml	8 días
ENC	Virus vivo	Ocular	1 gota	8 días

El Grupo 2 fue inmunizado siguiendo el mismo calendario de vacunación pero utilizando la vacuna B.

Los Grupos controles, ubicados uno en cada caseta, se vacunaron de la siguiente forma:

VACUNA	TIPO	VIA	DOSIS	EDAD
ENC	Emulsión	Subcutánea	0.5ml	8 días
ENC	Virus vivo	Ocular	1 gota	8 días

Los animales fueron alojados en corrales de tela de gallinero dentro de casetas convencionales (casetas de ambiente natural con comederos de lamina colgantes, bebederos tipo Plasson y criadoras de gas) y alimentados con dieta comercial.

Muestras sanguíneas fueron tomadas los días 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 de edad para la evaluación serológica por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH).

Estudios Serológicos.

Los títulos de IH (contra la Enfermedad de Newcastle e Influenza Aviar) de sueros fueron trabajados por Diagnósticos Clínicos Veterinarios S.A. de C.V.

Análisis de Resultados.

Las variables evaluadas fueron:

- * Título de anticuerpos contra IA en aves vacunadas con diferente antígeno bivalente emulsionado (vacuna A y vacuna B).
- * Título de anticuerpos contra ENC en aves vacunadas con antígeno bivalente emulsionado (ENC + IA).
- * Título de anticuerpos contra ENC en aves vacunadas con antígeno monovalente emulsionado (ENC).

Los resultados del título de anticuerpos contra ENC fueron evaluados por medio de análisis de varianza, usando el diseño de bloques completos aleatorizados, con la finalidad de ver si existen diferencias significativas entre las aves vacunadas con antígeno bivalente emulsionado y aves vacunadas con antígeno monovalente emulsionado.

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + B_j + \epsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, \dots, n; \quad j = 1, 2, \dots, k$$

En este modelo:

- Y_{ijk} es un valor típico de la población en total.
- μ es una constante desconocida.
- C_i representa un efecto de bloque que refleja el hecho de que la unidad experimental cayó en el i -ésimo bloque (caseta).
- E_j representa un efecto de tratamiento (edad), que refleja el hecho de que la unidad experimental recibió el j -ésimo tratamiento.
- ϵ_{ijk} es una componente residual que representa todas las fuentes de variación que no sean los tratamientos y los bloques.

Las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey.

Se realizaron dos curvas (una curva por vacuna usada) de los títulos de anticuerpos vacunales contra IA, de aves sin anticuerpos maternos contra IA, para lo cual, se utilizarán las Medias Geométricas (MG) del título de anticuerpos.

RESULTADOS.

RESULTADOS.

Los resultados serológicos obtenidos por la prueba de inhibición de la hemaglutinación contra influenza aviar de las vacunas bivalentes así como de las aves con vacuna monovalente se muestran en la tabla I.

Tabla I. Resultados serológicos de IH contra IA Log.

EDAD.	CASETA 11		CASETA 12	
	2 días			<1:10 10/10 10 Negativos
7 días	<1:10 10/10 10 Negativos		<1:10 10/10 10 Negativos	
	VACUNA A.	VACUNA C.	VACUNA B.	VACUNA C.
14 días	<1:10 10/10 10 Negativos	<1:10 10/10 10 Negativos	<1:10 10/10 10 Negativos	<1:10 10/10 10 Negativos
21 días	<1:10 2/10 >1:10 5/10 1:20 1/10 1:40 2/10 2 Negativos 8 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos	>1:10 2/10 1:20 1/10 1:40 1/10 1:80 3/10 1:160 2/10 1:640 1/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos
28 días	>1:10 1/10 1:20 3/10 1:40 1/10 1:80 1/10 1:160 1/10 1:320 4/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos	1:160 2/10 1:640 8/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos
35 días	1:20 1/10 1:40 2/10 1:80 2/10 1:160 1/10 1:320 2/10 1:640 2/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos	1:80 1/10 1:160 3/10 1:320 2/10 1:640 4/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos
42 días	1:80 2/10 1:160 1/10 1:320 2/10 1:640 5/10 10 Positivos	<1:10 6/10 >1:10 2/10 1:20 1/10 1:40 1/10 6 Negativos 4 positivos	1:640 10/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos
49 días	1:160 2/10 1:320 1/10 1:640 7/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos	1:640 10/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos
56 días	1:80 3/10 1:160 2/10 1:640 5/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos	1:640 10/10 10 Positivos	<1:10 10/10 10 Negativos

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana de Emergencia para la Campaña Nacional contra la Influenza Aviar publicada en el Diario Oficial de la Federación del Miércoles 3 de Agosto de 1994; La prueba de HI se realizará con 4 UHA Log, siendo (+) todos los sueros que produzcan inhibición de la hemoaglutinación en la dilución 1:10 y continuando las diluciones 1:20, 1:40 y 1:80.

Interpretación: <1:10 Negativo.

>1:10 Positivo.

Antígeno Influenza Aviar lote No. DC001-94 aprobado por la SARH el día 05-08-94.

Los resultados de IH contra Enfermedad de Newcastle Log se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la serología obtenida contra ENC luego de la aplicación de las vacunas bivalentes (A y B) y la vacuna monovalente (C).

EDAD.	CASETA 11		CASETA 12	
	VACUNA A	VACUNA C	VACUNA B	VACUNA C
2 días			5, 6, 7, 7, 7, 7, 7, 8, 8, 8.	
7 días	3, 4, 4, 4, 5, 5, 6, 7, 8, 8.		3, 3, 5, 5, 5, 5, 6, 6, 6, 7.	
14 días	2, 2, 2, 2, 2, 2, 3, 3, 4, 8.	0, 1, 2, 2, 2, 2, 2, 2, 2, 3.	1, 1, 2, 2, 3, 3, 3, 3, 4, 4.	1, 2, 2, 2, 3, 3, 3, 3, 3, 4.
21 días	3, 4, 4, 4, 5, 5, 5, 5, 7, 8.	3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 4, 5, 5.	3, 3, 4, 4, 4, 4, 4, 5, 5, 6.	2, 2, 2, 3, 3, 3, 3, 4, 5, 5.
28 días	2, 3, 4, 4, 4, 4, 4, 5, 6, 6.	0, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 4, 4, 8.	2, 2, 3, 3, 3, 3, 5, 5, 5, 6.	2, 3, 3, 3, 4, 4, 4, 6, 6, 7.
35 días	2, 2, 3, 4, 4, 5, 5, 5, 6, 6.	2, 3, 3, 3, 4, 4, 4, 5, 6, 6.	1, 3, 3, 4, 4, 4, 4, 6, 6, 7.	1, 2, 3, 3, 3, 4, 4, 4, 5, 7.
42 días	5, 5, 5, 5, 6, 6, 6, 6, 7, 8.	5, 5, 6, 6, 6, 7, 7, 7, 7, 8.	3, 4, 5, 5, 6, 7, 7, 7, 7, 7.	4, 5, 5, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 7.
49 días	4, 4, 6, 6, 6, 7, 7, 8, 8, 8.	5, 5, 5, 5, 6, 6, 6, 6, 7, 8.	4, 4, 5, 5, 6, 6, 6, 7, 8, 8.	5, 5, 6, 6, 6, 6, 6, 7, 7, 8.
56 días	4, 4, 5, 6, 6, 6, 6, 7, 7, 8.	5, 5, 6, 6, 7, 7, 7, 7, 7, 8.	3, 3, 4, 4, 4, 6, 6, 6, 7, 8.	5, 5, 5, 6, 6, 6, 6, 6, 7, 7.

Por disposiciones de la Dirección General de Salud Animal, SARH, la prueba de inhibición de la hemoaglutinación contra la enfermedad de Newcastle, se realizará con 10 unidades hemoaglutinantes (UHA). Esta modificación en la técnica original da resultados un punto más bajos en sueros con bajo título y de 1,5 puntos en sueros de título alto en relación a la técnica con 4 UHA que es la que se venía utilizando.

El 80% de las aves inmunizadas con la vacuna A mostraron respuesta hacia el antígeno de IA a partir de los 13 días postvacunación (PV) con un título máximo de 1:40.

A los 20 días postvacunación el 100% de las aves fueron seropositivas con un título máximo de 1:320

De los 27 a 34 días PV las aves presentaron un título superior a 1:20, y alcanzando el nivel máximo hasta la dilución 1:640.

De los 41 a 48 PV el 70% de las aves alcanzaron el título máximo de 1:640.

(Tabla 3)

Tabla 3. Distribución de los títulos de anticuerpos de aves inmunizadas con la vacuna A.

Título de IH. Dilución 1:5.								
Días post-vacunación	<1:10	>1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
6	100%							
13	20%	50%	10%	20%				
20		10%	30%	10%	10%	10%	40%	
27			10%	20%	20%	10%	20%	20%
34					20%	10%	20%	50%
41						20%	10%	70%
48						20%	10%	70%

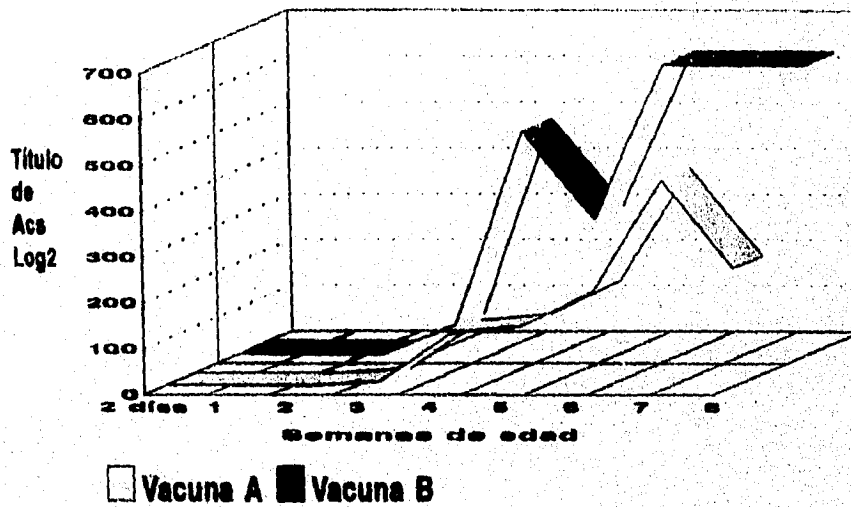
Se obtuvieron las medias geométricas de los resultados serológicos de IA obtenidos semanalmente con la finalidad de elaborar las curvas de anticuerpos vacunales contra IA.

Tabla 5. Inhibición de la hemoaglutinación (medias geométricas) contra influenza aviar Log_2 de aves vacunadas con antígeno bivalente.

EDAD	VACUNA A	VACUNA B
2 días	0	0
7 días	0	0
14 días	0	0
21 días	8.91	60.25
28 días	114.81	484.95
35 días	128.82	295.12
42 días	204.17	630.95
49 días	446.68	630.95
56 días	256.03	630.95

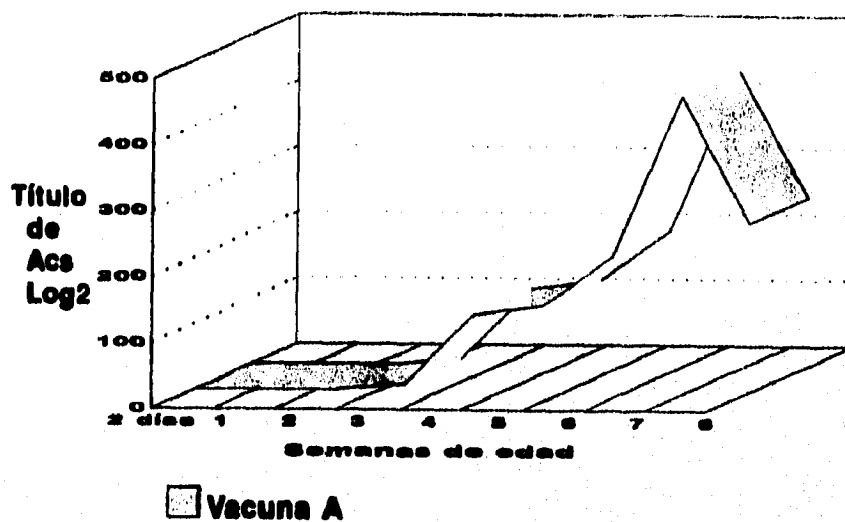
La vacuna B indujo mayor producción de anticuerpos contra IA, observándose diferencias significativas desde los 14 días PV. La vacuna B alcanzó el pico de anticuerpos a la sexta semana y se mantuvo así hasta la salida del pollo. La vacuna A alcanzó el pico de anticuerpos a la séptima semana, pero decayó notablemente a la octava semana. Gráfica 1.

Gráfica 1. Título de anticuerpos vacunales contra IA inducidos por la vacuna A y B.



Curvas de Anticuerpos Vacunales Contra Influenza Aviar.

Gráfica 2. Título de anticuerpos vacunales contra IA. Aves inmunizadas con vacuna A.



Gráfica 3. Título de anticuerpos vacunales contra IA. Aves inmunizadas con vacuna B.

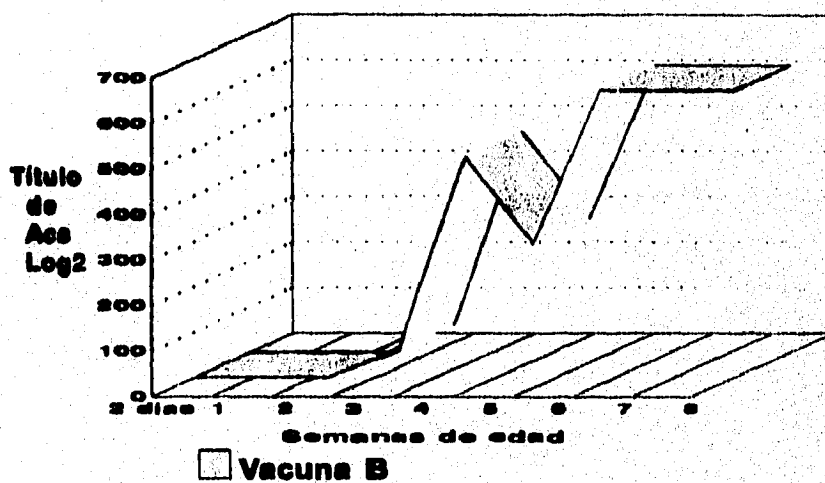


Tabla 6. Resultados serológicos contra ENC usando vacunas bivalentes (A y B) y vacuna monovalente (C).

Días de Edad.	Vacuna A		Vacuna B	
	ENC	IA+ENC	ENC	IA+ENC
2			7.0	7.0
7	5.4	5.4	5.1	5.1
14	1.8	3.0	2.6	2.6
21	4.1	5.0	3.2	4.2
28	3.4	4.2	4.2	3.7
35	4.0	4.2	3.6	4.2
42	6.4	5.9	5.7	5.8
49	5.9	6.4	6.2	5.9
56	6.5	5.9	5.9	5.1

De los 6 a 28 días PV la vacuna A se mantuvo un logaritmo por encima de la vacuna C en el título de anticuerpos contra la ENC, a los 34 días PV la vacuna C estuvo medio logaritmo sobre la vacuna A. Al final del ciclo la vacuna C se mantuvo ligeramente por encima de la vacuna A. Gráfica 4

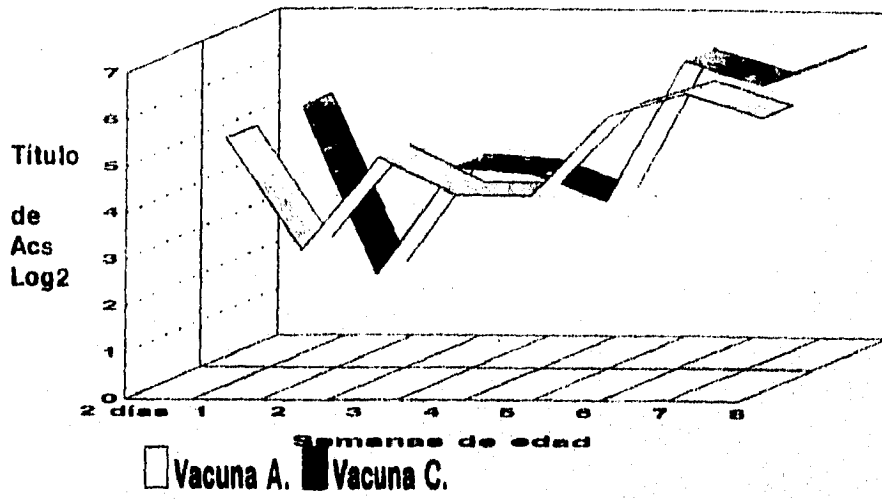
La vacuna B y la vacuna C, manifestaron un comportamiento semejante hasta los 48 días PV, la última semana se observó un aumento en el título de anticuerpos con la vacuna C. Gráfica 5

La vacuna A estuvo ligeramente por encima de la vacuna B, lo cual es visible a partir de los 6 días PV hasta los 48 días PV. Gráfica 6

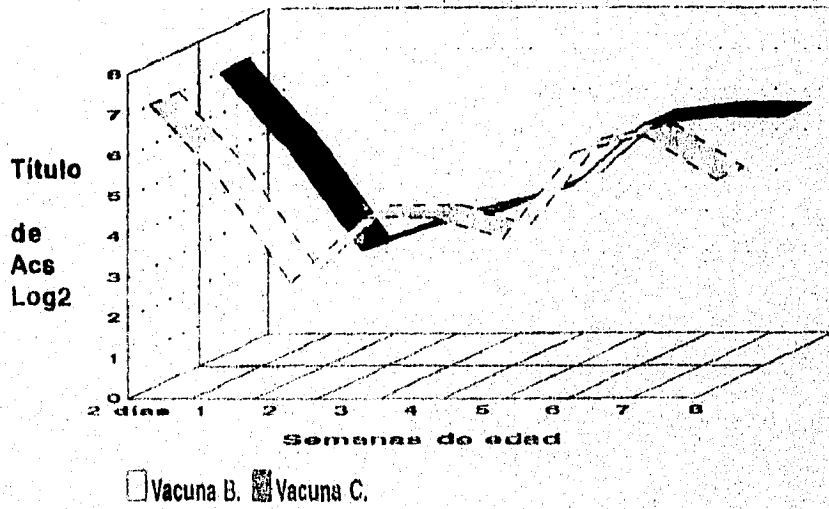
Se comparó el comportamiento de la vacuna C entre casetas, observándose un mejor título de anticuerpos en la caseta 12, aunque las diferencias no son significativas gráficamente, ya que no superan un logaritmo. Gráfica 7

Las vacunas usadas en este trabajo tienen un comportamiento muy semejante, obteniéndose títulos de anticuerpos protectivos a partir de los 28 días PV. con títulos superiores a 5, lo cual asegura que las aves están protegidas contra ENC, al usarse vacunas bivalentes y monovalentes.

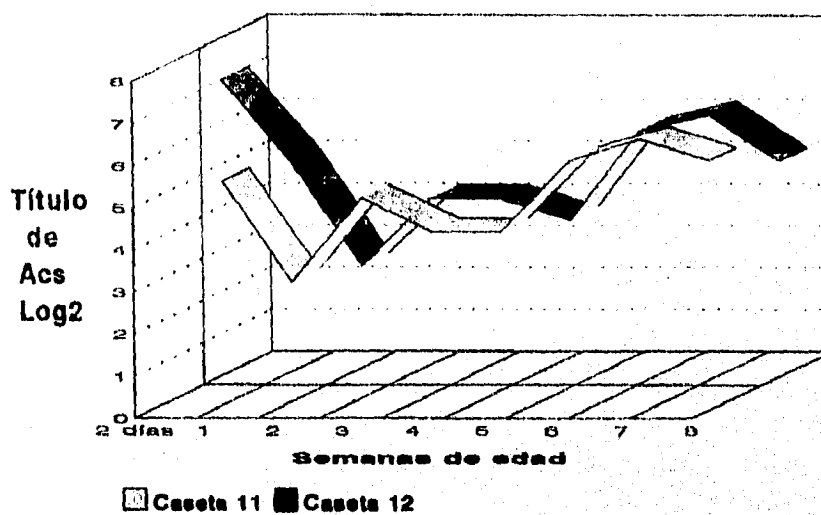
Gráfica 4. Titulo de anticuerpos contra ENC. Vacuna A y C.



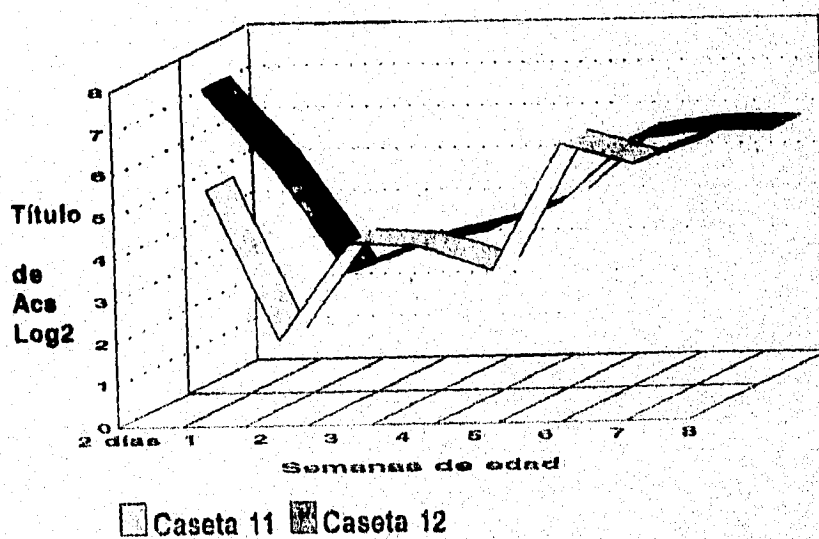
Gráfica 5. Titulo de anticuerpos contra ENC. Vacuna B y C.



Gráfica 6. Título de anticuerpos contra ENC. Aves con vacuna bivalente.



Gráfica 7. Título de anticuerpos contra ENC. Aves con vacuna monovalente.



El análisis de resultados se realizó por medio del análisis de varianza, con la finalidad de saber si las diferencias observadas en los títulos de anticuerpos contra IA y ENC eran significativas

Influenza Aviar.

	Media	N	Caseta
Vacuna B	329.56	90	12
Vacuna A	188.57	90	11

Caso 1. El valor crítico de F con 163 g.l. y $\alpha = .05$ es de 2.79. Como la razón de varianza calculada, 40.81, es mayor que 2.79, es visible que las medias de los títulos de anticuerpos contra IA producidos por la vacuna A y B son significativamente diferentes.

Enfermedad de Newcastle.

Comparación de Vacunas Bivalentes con Vacuna Monovalente.

	Media	N
Vacuna Bivalentes (A y B)	4.869	160
Vacuna Monovalente.	4.647	160

Caso 2. El valor crítico de F con 298 g.l. y $\alpha = 0.05$ es de 2.783. Como la razón de varianza calculada, 2.10, es menor que 2.783, se concluye que las medias de

los títulos de anticuerpos contra ENC producidos por la vacuna A y B comparadas con la vacuna monovalente no son significativamente diferentes.

Comparación de Vacunas Bivalentes.

	Media	N	Caseta
Vacuna A	4.832	160	11
Vacuna B	4.687	160	12

Caso 3. El valor crítico de F con 298 g.l. y $\alpha = 0.05$ es de 2.783. Como la razón de varianzas calculada, 0.76, es menor que 2.783, las medias de los títulos de anticuerpos contra ENC producidos por la vacuna A y B no son significativamente diferentes.

DISCUSIÓN.

DISCUSION.

Se encontraron títulos de anticuerpos contra IA de 1:10 a 1:320 con la vacuna A y de 1:160 a 1:640 con la vacuna B a los 20 días PV. García y col., evaluaron las vacunas contra IA existentes en el mercado, encontrando títulos de anticuerpos de 0 a 1280 a los 21 días PV, las cuales confirieron 100% de protección al desafío de VIAAP.

Las diferencias en el título de anticuerpos producidos por las vacunas evaluadas en este trabajo tiene dos posibles causas:

a) El título antigénico de las vacunas puede variar de un laboratorio a otro. La vacuna elaborada en México debe contener como mínimo $10^{5.2}$ dosis infectante en embrión de pollo 50%/dosis [16].

b) Producto usado para inactivar el virus. Al usarse formaldehído para inactivar el virus, se obtiene títulos menores en las aves vacunadas, que al emplearse beta-propiolactona. La beta-propiolactona al hidrolizarse después de la inactivación no causa daño a la fracción antigénica del virus. Por el contrario el formaldehído continua dañando la capa antigénica del virus, por lo tanto la inmunización es menor [35,39].

Soto y col, en condiciones de laboratorio y con aves SPF encontraron que títulos vacunales contra IA de 1:40 protegieron al 100% de las aves ante el desafío con VIAAP. En aves comerciales aun no se ha determinado cual es el título de anticuerpos que protege a las aves.

Gráficamente se observaron diferencias en el título de anticuerpos contra ENC; al realizar el análisis de varianza se encontró que no existían diferencias significativas entre la vacuna bivalente y la monovalente. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Xie y col, que al usar vacunas bivalentes contra IA+ENC no encontraron diferencias significativas en el título de anticuerpos contra la ENC. Soto y col., al aplicar una vacuna bivalente contra IA + ENC, observaron que existían diferencias constantes de 1 logaritmo, obteniendo el mayor nivel de anticuerpos con el uso de la fracción de ENC por separado, en este trabajo no se realizó el análisis de varianza.

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

* Existen diferencias significativas en los títulos de anticuerpos vacunales contra IA inducidos por la vacuna A y la vacuna B

* La vacuna B indujo el título más alto de anticuerpos vacunales contra IA y a edad más temprana, en comparación con la vacuna A.

* No se observaron diferencias significativas en el título de anticuerpos vacunales contra ENC entre las vacunas bivalentes y la vacuna monovalente, lo cual nos da la seguridad de que nuestras aves poseerán títulos de anticuerpos protectivos ante el desafío de un virus de campo de IAAP y ENC.

* Actualmente es difícil establecer una curva patrón del título de anticuerpos vacunales contra IA, ya que México es el primer país en el que se está llevando a cabo la vacunación en forma sistemática.

* En los trabajos realizados en relación a vacunación contra IA, aun no se ha determinado cual es el título de anticuerpos que pueda considerarse como protectorio en las explotaciones comerciales. Por otro lado los títulos inducidos por las diferentes vacunas comerciales son muy variables.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES.

Los resultados observados en los títulos vacunales contra IA nos deben alertar para la elección del laboratorio en el cual se van adquirir las vacunas a utilizarse en una explotación.

Es necesario evaluar todas las vacunas que existen en el mercado con la finalidad de estandarizar el método de elaboración y concentración de antígeno, para obtener títulos de anticuerpos vacunales semejantes con las diferentes vacunas comerciales.

En estos momentos se están llevando a cabo los seguimientos serológicos y evaluando el nivel de protección de las vacunas.

BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFIA.

1. ANECA, UNA, SARH. *Curso de actualización sobre Influenza Aviar*, Centro Médico Nacional, México, D.F., 24 de Junio, 1994.
2. ANECA. *Boletín informativo sobre Influenza Aviar*, Enero, 1995.
3. AVIMEX. *Primer Flash Informativo: " Presencia del virus de Influenza Aviar de baja patogenicidad en México "*, 26 de Mayo, 1994.
4. BEARD, C.W.; " Immunization aproaches to Avian Influenza "; *Proceedings First International Symposium on Avian Influenza*. Beltsville, Md; April, 1981.
5. CAMACHO, E.F., *et al*; " Presentación clínica de Influenza Aviar en pollo de engorda en México "; *Memorias, Sexto Curso de Actualización Avi-Mex*. México, D.F., 1 de Julio, 1994.
6. CAMACHO, E.F., *et al*; " Un año de experiencias con la Influenza Aviar en México"; *Memorias, Séptimo Curso de Actualización Avi-Mex*. México, D.F., 21 de Julio, 1995.
7. CENTENO. P.D.; *Evaluación comparativa de diferentes sistemas de vacunación contra Enfermedad de Newcastle*; Tesis de Licenciatura, M.V.Z.; FES C. UNAM; 1983.
8. COMISION MEXICO. ESTADOS UNIDOS PARA LA PREVENCION DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ENFERMEDADES EXOTICAS DE LOS ANIMALES (C.P.A.), *Influenza Aviar, una amenaza para la avicultura de México; 1994*.
9. C.P.A., Dispositivo de Emergencia en Salud Animal; *Operativo de Emergencia Contra Influenza Aviar*, 31 de Marzo, 1995

10. DANIEL, W.W.; *Bioestadística: Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud*; Editorila LIMUSA; México, D.F.; 1984.
11. Diario Oficial de la Federación; SARH: *Ley Federal de Sanidad Animal*, 1993.
12. Diario Oficial de la Federación; SARH: *Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-005-ZOO-1994, para la Campaña Nacional contra la Influenza Aviar*, 3 de agosto, 1994.
13. DIRECCION GENERAL DE SALUD ANIMAL; " Cronología de la Influenza Aviar en México ", *Nuestro Acontecer Avícola*. Vol II No. 8, Agosto-Septiembre, 1994. 26-30.
14. EASTERDAY, B., V. HINSHAW; " Influenza ": *Enfermedades de las aves*, Primera edición en español, Editorial El Manual Moderno, México, D.F.; 1995.
15. ESTUDILLO, L.J.; " ¿Aves silvestres responsables de la influenza aviar ó conveniente utopía para disimular ineficiencias y causas reales de la introducción y difusión de esta enfermedad en la Avicultura Nacional "; *Memorias, Bioseguridad para el Control y Prevención de la Influenza Aviar*, ANECA; México, D.F., 20 de Octubre, 1995.
16. GARCIA, G.J.; " Vacunas contra Influenza Aviar "; *Memorias, Bioseguridad para el Control y Prevención de la Influenza Aviar*, ANECA; México, D.F., 20 de Octubre, 1995.
17. GAY, M.G., *et al*; " Aislamiento e Identificación del Virus de Influenza Aviar en México ", *Memorias, Sexto Curso de Actualización Avi-Mex*. México, D.F., 1 de julio, 1994.

18. HENEIDI, Z.A.; " Epidemiología de la Influenza Aviar (IA) "; *Memorias, Bioseguridad para el Control y Prevención de la Influenza Aviar*, ANECA; México, D.F., 20 de Octubre, 1995.
19. HERNANDEZ, M.A., " Evaluación de una vacuna comercial emulsionada contra influenza aviar "; *Memorias, V Jornada Médico Avícola*, FMVZ, UNAM, México, D.F., 19 - 21 de Abril, 1995.
20. HERRERA, G.V.; *Seguimiento de los niveles de anticuerpos contra la Enfermedad de Newcastle por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación en pollos de engorda inmunizados con dos diferentes vacunas comerciales*; Tesis de Licenciatura, M.V.Z.; FES C, UNAM; 1985.
21. INEGI; *Síntesis Geográfica, Nomenclátor y Anexo Cartográfico del Estado de México*; Primera Reimpresión (Primera edición); México, 1987.
22. KENNETH, H.E; " Use of Inactivated Vaccine to Control Avian Influenza Outbreaks "; *Proceedings of 33rd Western Poultry Diseases Conference*; University of California, Davis, U.S.A.; 1984.
23. LUCIO, M.B., *et al*; " Aplicación de la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (HI) en el control de la enfermedad de Newcastle "; *Memorias, Apoyo de Laboratorio al Diagnóstico*; ANECA; Monterrey, N.L.; 11 de octubre de 1985.
24. MORGAN, I.R. A.P., KELLY; " Epidemiology of avian influenza outbreak in Victoria in 1985 "; *Australian Veterinary Journal*, 67:4, 1990.
25. NORTH, M.O.; *Manual de producción avícola*; Segunda Edición en español, Editorial El Manual Moderno; México, D.F., 1986.

26. ORTIZ, M.A., *et al.*. " Enfermedad respiratoria desconocida "; *Memorias. V Jornada Médico Avícola*, FMVZ, UNAM, México, D.F., 19 - 21 de Abril, 1995.
27. PEREZ, M.V.M.; *Curso Taller: Aplicación de Algunos Métodos Serológicos en la Industria Avícola*; ANECA; México, D.F.; 1989.
28. PRICE, R.J.; " Commercial avian influenza vaccines "; *Proceedings First International Symposium on Avian Influenza*. Beltsville, Md; April, 1981.
29. QUINTANA, J.A.; *Avitecna*; Primera edición; Editorial Trillas, México, D.F., 1988.
30. SARH, Subsecretaría de Ganadería, Dirección General de Salud Animal, *Operativo de control y erradicación de la Influenza Aviar en México (Plan de Trabajo)*, 1994.
31. SARH, Subsecretaría de Ganadería, Dirección General de Salud Animal, Coordinación del Operativo de Control y Erradicación de Influenza Aviar; *Boletín Informativo: " Influenza Aviar en México "*; No. 1,3,4,5,6,7, 1994; 19, 1995.
32. SAGAR, Dirección General de Salud Animal; *Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal: " Influenza Aviar "*; México, D.F.; 1995.
33. SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL (SAGAR); *Operativo de Emergencia para el Control y Erradicación de la Influenza Aviar*; 16 de Febrero de 1995.
34. SHANE, S.; " Situación actual de la Influenza en el mundo "; *Memorias, Séptimo Curso de Actualización Avi-Mex*. México, D.F., 21 de Julio, 1995.

35. SOSA, R.A.P.S.; *Evaluación serológica y por desafío de dos sistemas integrados de vacunación utilizados para la prevención de la Enfermedad de Newcastle en pollo de engorda*; Tesis de Licenciatura, M.V.Z.; FESC; 1991.
36. SOTO, E.P. "Influenza Aviar "; *Memorias, Sexto Curso de Actualización Avi-Mex*. México, D.F., 1 de Julio, 1994.
37. SOTO, E.P., *et al*; "Comportamiento de aves vacunadas contra el VIAAP en México "; *Memorias, Séptimo Curso de Actualización Avi-Mex*. México, D.F., 21 de Julio, 1995.
38. STONE H.D., "Efficacy of avian influenza oil-emulsion vaccines in chickens of various ages "; *Avian Diseases*, 31:483-490, 1987.
39. TIZARD, I.R.; *Inmunología Veterinaria*; Primera Edición; Nueva Editorial Interamericana; México, D.F.; 1979.
40. XIE, Z.X., H.D., STONE: "Immune response to oil-emulsion vaccines with single or mixed antigens of Newcastle disease, avian influenza, and infectious bronchitis "; *Avian Diseases*, 34:154-162, 1990.
41. ZANELLA, A., *et al*: "Avian Influenza: approaches in the control of disease with inactivated vaccines in oil emulsion "; *Proceedings First International Symposium on Avian Influenza*. Beltsville, Md; April, 1981.