



Universidad Nacional

**SAN LUIS GONZAGA**



## [Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0)

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



## INFORME DE REVISIÓN

Se ha realizado el análisis con el software antiplagio de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", por parte de los docentes reponsables, al documento cuyo título es:

### TIEMPO DE REFRIGERACION Y TITULO DE ANTICUERPOS EN LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

presentado por:

**DIANA LIZETS QUISPE CONDORPUZA**

del nivel **PREGRADO** de la facultad de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
obteniéndose como resultado una coincidencia de **28.65%** otorgándosele el calificativo de:


**APROBADO**

Se adjunta al presenta el reporte de evaluación del software antiplagio.

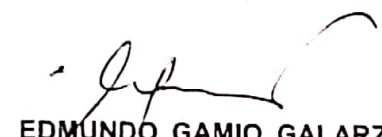
Observaciones:

El bachiller paso satisfactoriamente el sistema antiplagio

Ica, 15 de Diciembre de 2020



FRIEDA GABRIELA SANGUINETI DE  
RODRIGUEZ  
COORDINADOR  
SOFTWARE ANTIPLAGIO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA



EDMUNDO GAMIO GALARZA PORRAS  
ASESOR  
SOFTWARE ANTIPLAGIO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

**UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA DE ICA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TESIS**

**“TIEMPO DE REFRIGERACION Y TITULO DE ANTICUERPOS  
EN LA ENFERMEDAD NEWCASTLE”**

**EJECUTADO POR :  
QUISPE CONDORPUZA DIANA LIZETS**

**CHINCHA – PERU 2019**

## **DEDICATORIA**

A mi madre Juana ,porque es y será mi mayor impulso y mi más grande riqueza por enseñarme que uno jamás debe rendirse .A mi padre Leonidas por su inagotable amor de padre y su sabiduría. A mis amigos Rita,Jonas y Jhoel por su apoyo en esta etapa de mi vida profesional y su valiosa compañía , a mis colegas Fernando y Ademir por las inagotables anécdotas que tenemos en esta etapa de nuestras vidas.

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres por darme el apoyo incondicional, por estar siempre a mi lado y no permitirme dar marcha atrás.

A Pedro Quispe Arias por su colaboración a la realización de esta investigación

A Kali por su compañía en momentos inolvidables .

A mi amigo Jhoel por darme su por alentarme en realizar y concluir este proyecto.

A mi amigo Ademir por sus consejos en la realización de este proyecto y por su apoyo en los malos momentos .

A mis amigos Rita y Jonás por siempre estar en las buenas y en las malas con un vasito de felicidad .

A mi amigo Fernando por su forma de enfrentar los problemas y enseñarme que siempre se puede ser una buena persona después de un mal día .

## INDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b>	<b>4</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b>	<b>6</b>
<b>INDICE GENERAL</b>	<b>7</b>
<b>INDICE DE CUADROS</b>	<b>8</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>8</b>
<b>INDICE DE ANEXO</b>	<b>8</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>10</b>
<b>I. INTRODUCCION</b>	<b>11</b>
<b>II. REVISION BIBLIOGRAFICA</b>	<b>12</b>
2.1. ANTECEDENTES	12
2.2. MARCO TEORICO	12
2.2.1. Etiología de la enfermedad Newcastle	12
2.2.2. PATOGENIA	13
2.2.3. PERÍODO DE INCUBACIÓN	14
2.2.4. SÍNTOMAS	14
2.2.5. LESIONES	16
2.2.6. DIAGNÓSTICO	18
2.2.6. SISTEMA INMUNE DEL AVE	20
2.2.7. PATOGÉNESIS E INMUNIDAD DEL VIRUS DE NEWCASTLE	23
2.2.8. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DE LAS VACUNAS	25
2.2.9 TRANSFERENCIA DE IGY EN LA YEMA DE HUEVO	26
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>29</b>
3.1 LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN	29
3.1.1 LUGAR DE INSTALACIÓN	29
3.1.2 FECHA DE EJECUCIÓN	30
3.2. INSTALACIONES UTILIZADAS	30
3.3. MATERIALES UTILIZADOS	30
3.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN	31
3.5. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	31
3.5.1. MUESTRA DE AVES	31
3.5.2 FASE EXPERIMENTAL	32
3.6. TRATAMIENTOS	33
3.7. VARIABLES EN ESTUDIO	34
3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	34
3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE	34
3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL	34
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>35</b>
4.1. TITULOS DE ANTICUERPOS	35
<b>V. DISCUSION</b>	<b>38</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>39</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>40</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>41</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>45</b>

## INDICE DE CUADROS

Nº	
01 TITULOS DE ANTICUERPOS DE POLLOS A LOS 21 DIAS	35
02 ANALISIS DE VARIANZA	35
03 COMPARACIONES MULTIPLES DE LA REPETICIONES (TUKEY)	36
04 ANALISIS DE TUKEI EN LAS REPITICIONES (TUKEY)	37

## INDICE DE FIGURAS

Nº	
01 RECEPCION DE LOS POLLITOS BB	30
02EXTRACION DE LA MUESTRA	32
03REFRIGERACION DE LAS MUESTRAS EN VIALES	33
04 MUESTRA DE SANGRE EN VIAL	40

## INDICE DE ANEXO

01 DISTRIBUCION DE F	45
02 VACUNAS QUE SE UTILIZARON	45
03 IDENTIFICACION QUE LA VACUNA AH SIDO CORRECTAMENTE UTILIZADA	46
04 PRUEBA DE DUNCAN	46
05 DUNCAN PARA LAS MEDIAS	47
06 RESULTADO T1	48
07 RESULTADO T2	49
08 RESULTADO T3	50

## RESUMEN

**INTRODUCCION:** En la actualidad existe en el mercado un buen número de test de ELISA que permite el diagnóstico serológico de la enfermedad de Newcastle, el tiempo para refrigerar los sueros es de suma importancia para los resultados serológicos.

El Objetivo de la investigación fue Determinar el tiempo de refrigeración de sueros de pollos.

Metodología : Se analizaron 90 sueros de 40 días de edad en tres tratamientos T1:24 Horas de refrigeración (HR), T2:72 HR y T3:144 HR .

Resultados: se encontró el Título de T1: 2904 y un CV: 81.1%, T2:2063 CV: 81.7% y T3: 1885 CV73.1% siendo similar .

**CONCLUSION:** el tiempo de refrigeración no influye en los promedios aritméticos de los títulos de anticuerpos.

**Palabras claves:** Serología, Títulos, tiempo

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Currently there is a good number of ELISA tests on the market that allows the serological diagnosis of Newcastle disease, the time to refrigerate the sera is of utmost importance for poultry producers. The objective of the research was to determine the cooling time of chicken sera. Methodology used in the study: Blood samples were taken from the 90 chicks of 40 days divided into three treatments T1: 24 hours, T2: 72 hours and T3: 144 hours. Results: the average of T1 was found: 2904 and a CV: 81.1%, T2: 2063 CV: 81.7% and T3: 1885 CV73.1%. With which it is concluded: that the cooling time does not significantly influence the arithmetic averages of the antibody titers measured through ELISA

Keywords: Serology, Titles, tim

## I. INTRODUCCION

En nuestro medio la avicultura es una actividad que ha crecido notablemente, la cual ha ido adquiriendo una importancia socio-económica muy grande y es el rubro en el que mayores investigaciones se realizan, con el fin de lograr y disminuir los costos de producción. La explotación comercial de pollos de engorde constituye un aporte muy importante en el país y particularmente en el departamento de ICA. La enfermedad de New Castle (ENC) se reportó por primera vez en 1926 y a partir de este momento se diseminó por todo el mundo siendo actualmente endémica en muchos países (OIE, 2008). Es causada por el paramixovirus aviar tipo 1 (APMV-1) que afecta más de 200 especies de aves, incluido el pollo. Este virus (APMV-1) junto con otros ocho serotipos de paramixovirus aviares conforman el género Avulavirus de la familia Paramyxoviridae (Mayo, 2002). El curso de la enfermedad en las aves puede variar desde forma subclínica hasta moderado a severo con alta mortalidad dependiendo principalmente de la virulencia de la cepa circulante y de la susceptibilidad de la especie infectada.

La investigación servirá para determinar el tiempo de refrigeración de las muestras de suero estudio minucioso de las diferentes vías de vacunación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de refrigeración contra la enfermedad Newcastle. Evaluar el título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle de acuerdo al tiempo de refrigeración.

## **II. REVISION BIBLIOGRAFICA**

### **2.1. ANTECEDENTES**

Bevins(2016) El uso de papel de filtro para recolectar sangre de la vida silvestre para el análisis de anticuerpos puede ser una técnica poderosa para simplificar la recolección, transporte y almacenamiento de muestras de sangre. A pesar de estas ventajas, hay datos limitados que detallan cuánto tiempo se pueden almacenar estas muestras y cómo las condiciones de almacenamiento afectan la longevidad del anticuerpo. Utilizamos muestras de sangre recolectadas en papel de filtro de coyotes infectados experimentalmente con *Yersinia pestis* para determinar las condiciones óptimas de almacenamiento de la muestra a lo largo del tiempo. Las muestras de sangre recogidas en papel de filtro se almacenaron durante 454 d o más en cuatro grupos: 1) a temperatura ambiente y con humedad relativa ambiental, 2) a temperatura ambiente con desecante, 3) a 4 C con desecante y 4) a -20 C con desecante. Las muestras almacenadas a 4 C o -20 C con desecante tuvieron anticuerpos detectables durante un período de tiempo más largo que las muestras almacenadas a temperatura ambiente

### **2.2. MARCO TEORICO**

#### **2.2.1. Etiología de la enfermedad Newcastle**

El virus responsable de causar la Enfermedad de Newcastle pertenece a la familia Paramyxoviridae. Es un virus de forma más o menos esférica, aunque también pueden ser pleomórficos. Las partículas típicas del virus tienen de 100 a 300 milimicrones de diámetro. La capa envolvente contiene la franja de mixovirus compuesta de hemoaglutinina, hemolisina

y proteína neuroaminidasa. Bajo las proyecciones y sobre la capa envolvente hay un estrato de lípidos, y con el uso de solventes de lípidos se puede disolver este estrato y se altera el virión (Allan,1980). La familia Paramyxoviridae comprende 3 géneros. El género Morbillivirus que comprende al virus del Sarampión, Peste Bovina y Moquillo Canino; ningún miembro de éste género se ha aislado en aves. El género Pneumovirus que consta de virus sincitiales respiratorios en mamíferos, virus de neumonía en ratones y un neumovirus aviar relacionado con traqueítis en pavos y síndrome de cabeza hinchada en pollos. El género Paramixovirus se forma de los virus de Parainfluenza de los mamíferos, virus de Parotiditis Infecciosa y los Paramixovirus aviares, los miembros de éste género pueden distinguirse por poseer actividad neuroaminidasa, que no se encuentra en otros virus de la familia (Barrientos,1988).

### **2.2.2. PATOGENIA**

La patogenia de la enfermedad está gobernada por la alta afinidad viral por los eritrocitos a los cuales se adhiere instantáneamente a través de todo el cuerpo del hospedero. La lesión básica frecuentemente observada en la enfermedad clínica es congestión pulmonar seguida de disturbios circulatorios y en el centro respiratorio como resultado de la encefalitis. Los virus adheridos al endotelio vascular producen daño local y es considerado como la causa de las petequias frecuentemente observadas .

### **2.2.3. PERÍODO DE INCUBACIÓN**

El período de incubación varía de acuerdo a la virulencia de la cepa infectante, vía de penetración, dosis del inóculo y estado inmunitario activo o pasivo del ave. El período de incubación de la Enfermedad de Newcastle luego de la infección natural oscila de 2-15 días (promedio 5-6 días) .

### **2.2.4. SÍGNOS**

Los síntomas de la enfermedad pueden variar de un curso hiperagudo a uno crónico y la gravedad de un brote depende de la virulencia de la cepa que lo origine. Los brotes naturales pueden ser provocados por cepas lentogénicas, mesogénicas o velogénicas, siendo variable la severidad de cada brote de acuerdo a la tipificación del agente en el laboratorio ().

la Forma Lentogénica Se caracteriza por presentar síntomas respiratorios leves así como una baja en la producción de huevos. El apetito disminuye y durante la noche puede ser escuchada una tos leve. La producción de huevo desciende y retorna a la normalidad en pocas semanas, recuperándose completamente de la enfermedad. Generalmente no presenta mortalidad en aves adultas, pero sí se puede observar en aves jóvenes (Alvarado,1993).

La Forma Mesogénica En aves susceptibles, la enfermedad aparece repentinamente y se disemina rápidamente. Es una infección respiratoria de ligera a moderada, con presencia de tos, jadeo, anorexia, baja en la producción de huevos, y puede haber diarrea amarillenta. La mortalidad es baja, aunque en aves jóvenes puede llegar hasta el 50%. Signos

nerviosos pueden aparecer dos semanas después principalmente en aves jóvenes (Lara,1997).

La Forma Velogénica La enfermedad es de aparición súbita y difusión rápida en lotes susceptibles. Se pueden encontrar aves muertas sin síntomas evidentes. Inicialmente se observa incoordinación, depresión, postración, anorexia, caquexia y diarrea .

La Forma Velogénica-Viscerotrópica Se caracteriza por producir problemas respiratorios, postración y muerte con marcada baja en la postura, diarrea verdosa oscura, edema alrededor de los ojos y nariz (Bainz,1979).

La Forma Velogénica-Neurotrópica Se presenta como una afección respiratoria seguida de signos nerviosos. Las aves pueden presentar tortícolis, opistótonos, parálisis de piernas y alas. También se observa deshidratación y cianosis en crestas y barbillas. Las aves que sobreviven a la infección presentan daños en el sistema nervioso central. La mortalidad en esta forma puede llegar al 90% en lotes susceptibles (Bainz,1979).

La Forma Asintomática No se observan signos clínicos en este tipo de infección y la enfermedad es detectada únicamente por pruebas sexológicas o aislamiento viral (Bainz,1979). En algunos casos los únicos signos son la muerte súbita y elevada mortalidad en casos en los que no hay respuesta a la terapia con antibióticos. Esto es especialmente válido en aves jóvenes las cuales son más severamente afectadas que las aves adultas (28).

### 2.2.5. LESIONES

Lesiones Macroscópicas Hay una variación considerable en cuanto a las lesiones observadas a la necropsia, ya que éstas dependerán de la cepa viral, la edad, presencia de enfermedades inter-recurrentes y del estado inmunológico de las aves. No hay lesiones patognomónicas como tales asociadas con cualquiera de las formas de la enfermedad (2,69).

La forma Velogénica Se puede encontrar aerosaculítis (con opacidad o exudativa), neumonía, traqueítis, exceso de producción de moco en el tracto respiratorio superior de color grisáceo o amarillento y turbios, flacidez y hemorragias en ovarios y rupturas de yemas, lesiones necrotico-hemorrágicas en el tracto gastrointestinal principalmente en proventrículo, placas de tejido linfoide en mucosa intestinal (Placas de Séller) y tonsilas cecales, hemorragias en grasa coronaria y abdominal, ocasionalmente hay hemorragias en la superficie de la mucosa que separa el proventrículo de la molleja. ().

Forma Mesogénica Las lesiones van de leves a moderadas. Se puede observar una leve inflamación de la traquea (Traqueítis) y presencia de edema. Existe aerosaculítis y puede presentarse regresión folicular de los ovarios (

Forma Lentogénica Usualmente no produce ninguna lesión macroscópica de importancia. Puede observarse algunas lesiones respiratorias en aves desafiadas en ciertos aislados de la cepa La Sota cuando:

- Las aves son positivas a *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma sinoviae*.
- Existen condiciones ambientales adversas (polvo o amoníaco excesivos).
- Técnicas de vacunación deficientes.
- Inmunosupresión

.En algunas ocasiones se describen lesiones como opacidad de la córnea, así como hemorragias petequiales o equimóticas

en los músculos y tejido graso, grandes úlceras en mucosas del tracto gastrointestinal y necrosis del epitelio de la Bursa de Fabricius . En embriones de pollo hay presencia de encefalitis hemorrágica y en sacos aéreos hay exudado grisáceo o amarillento o se pueden encontrar en el tracto respiratorio hemorragias petequiales y tráquea hiperémica; el bazo esta hipoplásico; en el epicardio, grasa abdominal, serosas y tracto digestivo pueden observarse hemorragias petequiales (Lesiones Microscópicas Los cambios histopatológicos no son muy característicos de la Enfermedad de Newcastle a excepción de los cambios en el cerebro. Cuando hay encefalitis, se presenta meningoencefalitis no supurativa, caracterizada por vasculitis fibrinoide en los vasos sanguíneos y reacción mononuclear, especialmente en los linfocitos ). Se incluyen también lesiones como degeneración neural, infiltración perivascular con células linfocitarias e hipertrofia endotelial. Debe hacerse diferenciación de las lesiones observadas en Encefalomielitis Aviar y otras encefalitis .

En Aparato Gastrointestinal se observan lesiones hemorrágico necróticas en intestinos, especialmente con formas virulentas de la enfermedad. Pueden desarrollarse agregados linfoides ( ). En el Sistema Vascular hay hiperemia, hemorragias y edema en vasos sanguíneos. Se observa a su vez hialinización de los capilares y arteriolas. Trombosis hialina y necrosis de células endoteliales de los vasos. En Aparato Respiratorio, en la mucosa del tracto superior se observa edema, congestión, infiltración celular densa de linfocitos y macrófagos. En sacos aéreos se observa también edema e infiltración celular heterofílica y mononuclear. En Aparato Reprodutor se observa atresia de los

folículos con infiltración de células inflamatorias y formación de agregados linfoides ).

### **2.2.6. DIAGNÓSTICO**

Se basa en el método clínico y el método confirmativos llevados a cabo en campo y laboratorio respectivamente.

Esta dado por los datos de la anamnesis, signos nerviosos, digestivos o respiratorios y lesiones observadas a la necropsia. El diagnóstico definitivo puede hacerse únicamente a nivel de laboratorio. Es importante realizar un diagnóstico de ésta categoría apoyándose en la anamnesis, etc.

La Confirmación está dada por el aislamiento del virus, pruebas como la de hemoaglutinación, inhibición de la hemoaglutinación, ELISA, etc. Los anticuerpos normalmente aparecen 8 días postinfección en pollos

- Prueba de Hemoaglutinación (HA): Una de las características del virus de la Enfermedad de Newcastle es su capacidad hemoaglutinante, habilidad que se debe al enlace que se produce entre la proteína hialuronidasa y los receptores en la superficie de los glóbulos rojos. El hecho de hemoaglutinar los glóbulos rojos de gallina y de seres humanos permite diagnosticar inicialmente la presencia del virus de la enfermedad).
- Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI): Se basa en la propiedad del virus de aglutinar glóbulos rojos de ave. Es una prueba cuantitativa, rápida y confiable. La presencia de anticuerpos en los sueros problema va a impedir la hemoaglutinación pues va a ocupar los sitios de unión del virus con los eritrocitos de ave. El título de la inhibición de la hemoaglutinación se obtiene multiplicando la más alta dilución del suero que inhibe la hemoaglutinación por el número de

unidades hemoaglutinantes del virus. Los resultados generalmente se expresan como promedio geométrico bien sea utilizando diluciones dobles o expresando el resultado en logaritmo de base dos. Existe el método alfa, suero constante y antígeno diluido; y el método beta, suero diluido y antígeno constante ().

- Prueba de Seroneutralización: Se utiliza virus conocido, al que se le añade suero problema. Si existen anticuerpos en el suero que se correspondan con el virus, éste resulta neutralizado o pierde su poder infectante ().

- Prueba de Anticuerpos Fluorescentes: Es el método ideal para el diagnóstico rápido en la fase aguda de la enfermedad, ésta se realiza con raspado de tejido traqueal. El principio de ésta técnica se basa en que el anticuerpo se conjuga químicamente con colores fluorescentes como el isotiocianato de fluoresceína o rodamina B, los cuales producen fluorescencia cuando se exponen a la luz ultravioleta azul. Pero si se aplica un anticuerpo conjugado a la muestra que contiene el antígeno específico, se forma un complejo marcado antígenoanticuerpo, y cuando el anticuerpo libre o no marcado con fluoresceína se elimina por el lavado, el complejo antígeno-anticuerpo marcado y unido muestra fluorescencia verde-amarillo brillante con isotiocianato de fluoresceína, o pardo-rojizo con rodamina B en microscopio fluorescente ().

- Inmunoensayo Enzimático (ELISA): Las principales ventajas de éste método es su alta especificidad, reproductibilidad, rapidez y el uso de equipo computarizado para el análisis de los resultados. Es sistema se basa en la visualización de la reacción antígeno-anticuerpo gracias a una enzima (generalmente peroxidasa o fosfatasa) conjugada a un anticuerpo. Existen algunas variantes en la técnica que permiten determinar niveles de anticuerpos o detectar presencia de antígenos

- **Aislamiento del Virus:** El virus puede ser aislado en embriones de pollo. La edad ideal de los embriones para el diagnóstico es de 9-11 días. Se cosecha pulmón, tráquea y bazo para la realización de un macerado, del cual se inocula 0.1 ml en la cavidad alantoidea con solución salina estéril y antibiótico de amplio espectro. Los embriones mueren presentando hemorragias en todo el cuerpo, encefalitis hemorrágica, hay hipoplasia esplénica, hiperemia traqueal, bronquitis, hemorragias petequiales en tracto respiratorio, epicardio, grasa abdominal, serosas y tracto digestivo. Como parte confirmativa se obtiene el líquido alantoideo para realizar la prueba de hemoaglutinación.

#### **2.2.6. SISTEMA INMUNE DEL AVE**

El sistema inmune aviar consta de dos mecanismos de defensa inmunológica: la inmunidad innata o natural y la inmunidad adquirida. La inmunidad natural incluye barreras anatómicas (piel, cilios traqueales, membranas mucosas), barreras fisiológicas (fiebre, enzimas, fluidos corporales, PH), células de respuesta inflamatoria y el sistema de complemento. La inmunidad adquirida incluye los mecanismos de respuesta celular y humoral dependiente de los órganos linfoides del sistema inmune. Las aves presentan dos órganos linfoides primarios, la bursa de Fabricio y el timo además de órganos linfoides secundarios como el bazo, la médula ósea y estructuras linfoides como: la glándula de Harder, las tonsilas cecales, placas de Peyer y el divertículo de Meckel. (Fernandez,2000). Los órganos linfoides primarios son el lugar anatómico donde ocurre la diferenciación de las células inmunológicas en dos tipos de linfocitos: los linfocitos B en la bursa y los linfocitos T en

el timo (Wakenell, 2006). Estas células producen reacciones específicas para combatir agentes extraños al organismo (Alba,1999): Las células T son las responsables por las reacciones inmunes celulares y por la regularización de las reacciones del sistema inmunológico en general. Algunos linfocitos participan en la respuesta mediada por células (LT efectores), otros son auxiliares o helpers (LTh), otros son supresores (LTs) y otros memorizan los episodios de estimulación antigénica. (LT de memoria). (Janeway,1999). Dentro de los LTh, existe una diferenciación: las células LTh1 y las células LTh2. Las células Th1 no solamente promueven la activación de macrófagos, sino también la producción de IgG2 a opsonizante, anticuerpos de la fijación de complemento y anticuerpos involucrados en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (Alexander,2001). Por estas razones, las células Th1 pueden ser consideradas como responsables para las respuestas fagocíticas del huésped más bien que simplemente responsables de la inmunidad mediada por células (CML) (Andrade et al 1986). Por otro lado, las células Th2 no solamente dan óptima ayuda en las respuestas inmunes humorales, que incluyen los cambios o "switching" de los isotipos IgE e IgG1 sino que también están involucradas en la inmunidad mucosal, a través de la producción de factores de crecimiento y diferenciación de mastocitos y eosinófilos. Además algunas citoquinas derivadas de Th2, como IL-4, IL- 10 e IL-13 inhiben muchas funciones de los macrófagos. Así las células Th2 pueden ser consideradas como responsables para las respuestas del huésped independientes de fagocitosis (Romagnani, 1995, Abbas y col.1996). Otras citoquinas, como la IL-3 factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF), y el

factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), son producidas tanto por células Th1 como por células Th2 (Sell et al, 1991).

Las células B son las responsables de la secreción de anticuerpos y responsables por las reacciones del sistema inmune humoral. La interacción del linfocito B con el antígeno provoca su división, diferenciación y producción de anticuerpos circulantes. La subdivisión de estos linfocitos genera 3 subpoblaciones: células de memoria, células plasmáticas que a su vez producen anticuerpos y células dendríticas cubiertas con antígeno para formar los centros germinales. En las aves, las células plasmáticas producen tres tipos de inmunoglobulinas: Ig Y: En los mamíferos, conocida como Ig G, principal inmunoglobulina en la yema y el suero (hasta 75% de concentración en el suero), son las principales efectoras de la inmunidad humoral. Constan de dos sitios de unión para el antígeno. Presente en la fase tardía de la infección o de la respuesta serológica, es la inmunoglobulina determinada en las pruebas serológicas (HI/ELISA). Ig M: primera inmunoglobulina en aparecer luego de un primer estímulo antigénico. Son consideradas la primera línea de defensa. Cuenta con 5 subunidades unidas radicalmente en 5 forma de estrella, cada subunidad tiene dos sitios antigénicos, siendo capaz cada anticuerpo de unirse a 10 moléculas de antígeno. Ig A: Inmunoglobulinas responsables por las secreciones y los fluidos biológicos. Primer mediador de la inmunidad local. Es un dímero (dos subunidades) que se produce en el subepitelio del tejido linfoide intestinal excepto las tonsilas cecales, tejido respiratorio y genital, presentes en gran cantidad en la bilis y en las vías respiratorias (Ahmad,1992).

### 2.2.7. PATOGÉNESIS E INMUNIDAD DEL VIRUS DE NEWCASTLE

Inicialmente el virus se replica en las mucosas del tracto respiratorio e intestinal. La diseminación de la infección en la tráquea ocurre por la acción de los cilios y por la infección célula a célula. La subsiguiente diseminación del virus depende en gran medida de la virulencia de la cepa. Mientras que las cepas lentogénicas circulan con bajos títulos, las mesogénicas afectan los riñones, pulmones, bazo y la bolsa de Fabricio y las velogénicas se encuentran dentro de las 12-24 horas posinfección (pi) en prácticamente todos los tejidos, con altos títulos en el timo y más bajos en los músculos y el cerebro. Después de la multiplicación inicial en el sitio de entrada, las cepas velogénicas se difunden por viremia al bazo, hígado, riñones y pulmones donde se interrumpe la multiplicación por 12-24 horas hasta las 36 horas pi y los títulos virales disminuyen. El virus infecta el cerebro antes de que circulen cantidades suficientes de anticuerpos y después que la multiplicación en los tejidos no nerviosos ha cesado (alrededor de las 60 horas pi) y las aves están moribundas (Fernandez,2000). Durante la segunda multiplicación, después de la interrupción, el virus es nuevamente liberado al flujo sanguíneo, lo cual está asociado con la aparición de los signos generales de la enfermedad y la excreción de virus. En algunas cepas de virus que afectan rápidamente órganos vitales como el riñón y el hígado, las aves pueden morir antes que los signos sean evidentes (Fernandez,2000).

La secuencia en la cual son infectados los tejidos explica porque los signos nerviosos aparecen después de la presencia de los signos respiratorios, intestinales y generales de la enfermedad. Sin embargo, en las cepas velogénicas neurotrópicas el virus puede estar presente al

mismo tiempo en el Sistema nervioso central y en el tracto intestinal y respiratorio (Alexander,2001). La respuesta inmune inicial a la infección con el VEN es mediada por células y puede ser detectada tan temprano como 2-3 días pos vacunación con vacuna viva lo que explica la temprana protección a la confrontación observada en aves vacunadas antes de que puedan ser detectados anticuerpos y evidencia la importancia de esta inmunidad en la respuesta a la vacunación . Sin embargo, se ha demostrado que esta inmunidad sola no protege contra la confrontación con cepas virulentas y los anticuerpos neutralizantes son necesarios para la protección, con un efecto cooperativo de ambos tipos de respuestas inmunes que resulta en la prevalencia de los anticuerpos neutralizantes La producción de anticuerpos es rápida, tanto a nivel local como sistémica. En el tracto respiratorio superior se detectan anticuerpos de tipo IgA con pequeñas cantidades de IgG, similar a las reveladas en la glándula de Harder que no permiten la replicación viral en estos órganos (Alexander, 2001). En la respuesta sistémica aparecen en una primera fase los anticuerpos de tipo IgM seguido por la IgG (King,1999), los cuales son detectados entre los 4 a 6 días pi y persisten por al menos 2 años (Alexander, 2001).

El nivel de los títulos de anticuerpos dependen de la cepa de virus que produce la infección, pero generalmente el nivel máximo de la respuesta se alcanza alrededor de la tercera o cuarta semana pi., después de la cual los títulos comienzan a declinar si no se realizan reinmunizaciones (Giambrone,1984). Estos anticuerpos son transmitidos mediante el saco vitelino a la progenie y la protegen de la enfermedad en las primeras 3-4 semanas de vida sin interferir con el desarrollo de la respuesta local de anticuerpos (Alba *et al*, 1999).

## 2.2.8. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DE LAS VACUNAS

Capacidad inmunizante de la vacuna. La vacuna debe ser fuertemente inmunogénica, dependiendo, para ello, de la estructura antigénica, la constitución química, su configuración y estado físico. La calidad antigénica es distinta dependiendo de si están constituidas por bacterias o virus, atenuados. También influye el modo de preparación de la vacuna. Hay dos tipos de vacunas: con el antígeno en estado puro y con el antígeno modificado sobre un coadyuvante. Los coadyuvantes refuerzan el efecto inmunogénico del antígeno de manera no específica, permitiendo así la obtención de títulos más elevados de anticuerpos con una cantidad más pequeña de antígenos y un número más reducido de dosis. Son inmunoestimulantes sin ser inmunogénicos. Los más utilizados son los compuestos de aluminio, como el hidróxido y el fosfato. Genéticos, pues hay líneas que constitucionalmente responden mejor que otros a los estímulos antigénicos. Edad, la capacidad de respuesta frente a la inmunización activa está disminuida en los primeros meses de vida por dos motivos: la inmadurez del sistema inmunológico, y la interferencia producida por los anticuerpos maternos. Sin embargo, los datos inmunológicos recientes muestran que el ave es apto para la inmunización muy precozmente, por lo que no hay ninguna razón para retrasar las vacunaciones más allá de la primera semana. La edad más favorable para cada vacunación dependerá de la epidemiología de las enfermedades, el periodo de vida en el ave está más expuesto, y la mayor o menor aptitud para reaccionar a la estimulación vacunal.

## 2.2.9 TRANSFERENCIA DE IGY EN LA YEMA DE HUEVO

Según Rose y col. y Losch y col. , tanto la IgA como la IgM son transferidas desde las células plasmáticas del oviducto hacia la clara. En general se considera que la IgY es la inmunoglobulina predominante en la yema mientras que la IgA y la IgM prevalecen en la clara del huevo. Sin embargo, como veremos a continuación, esta división no es absoluta. Yamamoto y col. también pudieron demostrar la existencia de considerables cantidades de IgM e IgA en la yema, así como también IgY en la clara de los huevos. Probablemente la demostración de diferentes clases de inmunoglobulinas en los distintos compartimentos del huevo es un problema de concentración y de los métodos de cuantificación empleados. De acuerdo con información reciente, la IgY se transfiere exclusivamente a la yema por un proceso activo mediado por receptores. La cantidad de IgY transferida se relaciona con su concentración en el suero sanguíneo de las gallinas y aparentemente la IgY se transfiere sin ningún tipo de selección previa relativa a sus especificidades. A pesar de ello hay observaciones inéditas que revelan distintas especificidades entre las IgY provenientes del suero y de la yema de una misma gallina, aun cuando ambas hayan sido obtenidas durante el mismo periodo (Hlinak, comunicación personal).

Según investigaciones recientes para que la transferencia ocurra, es esencial que tanto una parte de la región Fc como la región bisagra se encuentren intactas. Las cadenas laterales de hidratos de carbono Fc asociadas no serían necesarias para que ocurra este fenómeno. Aparentemente existen dos regiones que tienen particular importancia, la primera es la interfase entre Cu<sub>2</sub> y Cu<sub>3</sub>, residuos 251 - 254 (LYIS) y la

segunda se encuentra en las posiciones 429 - 432 dentro de Cu3 (HEAL). Todas las inmunoglobulinas transportadas a la yema tienen la secuencia HEAL. Experimentalmente se ha demostrado que la IgG2b de ratón con la secuencia HEGL y la IgA de pollo con la secuencia HDGI no son transportadas a la yema. La IgY demora aproximadamente unos 5 días en aparecer en un huevo desde el momento en que es activamente transportada desde la circulación sanguínea al ovocito hasta que es puesta por la gallina. Sin embargo este período varía según los distintos autores y los anticuerpos específicos séricos pueden aparecer en la yema de los huevos con un retraso de 3 a 4 días ó bien prolongarse hasta 5 a 7 días. Durante este período de tiempo el ave ovula y el ovocito, a medida que pasa por las distintas secciones del oviducto, va adquiriendo sucesivamente la clara, las membranas internas y finalmente en su porción engrosada o útero se forma la cáscara. En las gallinas de alta postura la maduración de los ovocitos y la producción de huevos es seriada, de modo de casi todos los días producen un huevo. Probablemente, el tiempo que una IgY sérica demora en aparecer en el huevo depende del número de huevos procesados en ese momento. La cantidad de IgY transportada parecería ser independiente del tamaño del huevo.

Existen discusiones sobre la relación entre la concentración de IgY en la yema y en el suero. Algunos autores no han encontrado diferencias entre ambas concentraciones, mientras que otros hallaron una mayor concentración en la yema. Por ejemplo, Woolley y Landon encontraron que la concentración de IgY en la yema fue 1,23 veces mayor que en el suero. Esta mayor concentración en la yema es indicativa de un proceso activo y no de una mera transferencia pasiva de la IgY desde la sangre

hacia los ovocitos. La concentración de IgY en la yema varía entre los 10 a 20 mg/mL, pudiendo encontrarse entre 100 y 400 mg de IgY por huevo. Esta variación depende de la línea genética o raza del ave, como por ejemplo: Single Comb White Leghorn  $2,21 \pm 0,44$  [SD] mg/mL; SLU-1329  $1,95 \pm 0,48$  mg/mL; y Rhode Island Red  $1,68 \pm 0,50$  mg/mL . Además, la cantidad total de IgY en el huevo está relacionada con el tamaño del mismo y las variaciones fisiológicas individuales.

Los pollitos recién nacidos son incapaces de autodefenderse de la invasión microbiana que encuentran una vez que eclosiona el huevo, ya que el huevo brinda un ambiente bastante sano y estéril, y en cuanto el pollito sale de este se encuentra expuesto al ambiente, que frecuentemente está muy contaminado por ejemplo, de microorganismos patogénicos. La transferencia de la inmunidad de la gallina al pollito recién nacido es un momento fundamental para la supervivencia de éste último, ya que sin esta inmunidad el pollito no cuenta con ningún medio para poder lidiar con el ambiente contaminado. La transferencia de inmunidad de la madre al recién nacido se hace de diferentes formas. Los mamíferos, por ejemplo, transmiten esta inmunidad a través del calostro, que es la leche concentrada que contiene gran cantidad de proteínas y que puede ser ingerida por el recién nacido mediante las mamas de la madre, lo cual debiera ocurrir preferiblemente entre las 6 y 24 horas del nacimiento; si se le da luego de este tiempo, el calostro será considerado como alimento y se ingerirá mediante una digestión enzimática por medio del intestino.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN

La investigación a desarrollar se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga De Ica. Desde el 14 de enero al 1 de marzo del . 2019.

##### 3.1.1 LUGAR DE INSTALACIÓN

##### LOCALIZACION GEOGRAFICA Y METEOROLOGICA.

Latitud .....	13°26'40''
Longitud .....	76°06'24''
Altitud .....	91 msnm
Temperatura min. promedio febrero...	20°C
Temperatura max. promedio febrero ...	30°C
Relative humidity m. Promedio...	50%
Relative humidity M. promedio ...	65%

**Fuente: Estación Meteorológica agrícola – Instituto Nacional de Innovacion Agraria – INIA – CHINCHA –Servicio Nacional de Meteorologia e Hidrologia – SENAMHI – ICA (2019)**

## **Ilustración 01 RECEPCION DE LOS POLLITOS BB**



### **3.1.2 FECHA DE EJECUCIÓN**

Desde el 14 de enero al 1 de marzo del 2019

### **3.2. INSTALACIONES UTILIZADAS**

Modulo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.

Laboratorio Farvet SAC.

### **3.3. MATERIALES UTILIZADOS**

- 90 tubos
- 90 agujas
- Algodón
- Alcohol
- Útiles de oficina
- Caja de teknoport
- Pipetas de precisión
- Equipo de Elisa

- Kit de Elisa

### 3.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigación experimental, aplicada

### 3.5. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

Para la serología se utilizó la prueba de ELISA, es una técnica muy confiable en la industria de inmunoensayo en la cual se prueba un antígeno inmovilizado se detecta mediante cuando un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo. Existe otra forma donde, un anticuerpo primario que reconoce al antígeno y que a su vez es reconocido por un anticuerpo secundario que lleva enlazado la enzima anteriormente mencionada. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra. se analizará 10 muestras por tratamiento en tres periodos (inicio, después de la vacuna). También se evaluará las lesiones y signos en aves post desafío.

#### 3.5.1. MUESTRA DE AVES

La unidad de muestreo fue calculada para determinar el número de, utilizando la siguiente

$$n = \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta) s}{d} \right]^2$$

Error tipo I 95% de confianza, Error tipo II 90%. Valor de alfa 95% = 1,96. Valor de Beta 90% = 1.28.  
d=error permisible(5%)

$$n = \left[ \frac{(1.96 + 1.28) 15}{5} \right]^2 = 94$$

### **3.5.2 FASE EXPERIMENTAL**

Se tomaron las muestras del suero de 90 pollos de 40 días de edad, de la línea genética Cobb 500, en función al tratamiento, las pruebas serológicas se evaluó por el método ELISA los títulos de anticuerpos con el indicador de la enfermedad de Newcastle.

### **Ilustración 02EXTRACION DE LA MUESTRA**



### 3.6. TRATAMIENTOS

Las muestras del suero extraídas de las aves serán llevadas al laboratorio de inmunología de Farvet, para evaluar los títulos de anticuerpos del suero, estas muestras se mantendrán refrigeradas a 4°C para su evaluación en tres tiempos: 24 horas, 72 horas ,144 horas

T-1: 24 Horas de refrigeración

T-2: 72 Horas de refrigeración

T-3 :144 Horas de refrigeración

### Ilustración 03REFRIGERACION DE LAS MUESTRAS EN VIALES



### **3.7. VARIABLES EN ESTUDIO**

#### **3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE**

Tiempo de refrigeración

#### **3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE**

Títulos de anticuerpos en el suero de aves.

##### **3.7.2.1. INMUNIDAD DEL AVE**

Títulos de anticuerpos medidos a través de la prueba de Elisa contra la enfermedad de Newcastle.

### **3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Los sueros del experimento serán distribuidos aleatoriamente. Cada uno de los tratamientos tendrá 3 repeticiones, dando un total de 3 unidades experimentales cada uno con 10 sueros de aves, haciendo un total de 90.

### **3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos obtenidos de las variables evaluadas serán procesados y analizados estadísticamente mediante los siguientes análisis:

- Análisis de homogeneidad de variancia.
- Prueba de comparación de medias de Tukey.

Para las medias de los títulos se realizó análisis de homogeneidad de variancia y prueba de comparación de medias de Tukey, para el que se fijó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$  para los efectos de la significancia estadística se utilizara el software SPSS23.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. TITULOS DE ANTICUERPOS

Para conocer el funcionamiento del programa vacunal se recurre a la serología, en sus diferentes técnicas (aglutinación rápida en placa, inhibición de la hemoaglutinación y ELISA), obteniendo las empresas una información útil acerca de la aplicación de las vacunas o de si ha habido contacto con algún virus no incluido en dicho programa. Algunas empresas sólo chequean lotes con problemas, mientras que otras trabajan de forma más continuada para establecer su propia “base de datos”,

Tabla 01 TITULOS DE ANTICUERPOS DE POLLOS A LOS 40 DIAS DE EDAD

ITEM	T1	T2	T3
N	30	30	30
PROMEDIO ARITMETICO	2904	2063	1885
PROMEDIO GEOMETRICO	2017	1347	1330
CV	87.1	81.7	73.7
MAXIMO	10582	5701	5723
MINIMO	307	188	93
METODO	ELISA	ELISA	ELISA

Tabla 02 ANALISIS DE VARIANZA

## ANOVA

ANTICUERPO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17753328,690	2	8876664,344	2,304	,106
Dentro de grupos	335257820,000	87	3853538,161		
Total	353011148,700	89			

**Tabla 03 COMPARACIONES MULTIPLES DE LA REPETICIONES (TUKEY)**

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: ANTICUERPO

	(I) REPETICION	(J) REPETICION	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	1	2	1018,33333	506,85555	,116	-190,2534	2226,9200
		3	840,70000	506,85555	,227	-367,8867	2049,2867
	2	1	-1018,33333	506,85555	,116	-2226,9200	190,2534
		3	-177,63333	506,85555	,935	-1386,2200	1030,9534
	3	1	-840,70000	506,85555	,227	-2049,2867	367,8867
		2	177,63333	506,85555	,935	-1030,9534	1386,2200

**Tabla 04 ANALISIS DE TUKEI EN LAS REPITICIONES (TUKEY)**

<b>ANTICUERPO</b>			
			Subconjunto para alfa = 0.05
	REPETICION	N	1
HSD Tukey <sup>a</sup>	2	30	1885,4000
	3	30	2063,0333
	1	30	2903,7333
	Sig.		,116
Tukey B <sup>a</sup>	2	30	1885,4000
	3	30	2063,0333
	1	30	2903,7333

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30,000.

## V. DISCUSION

La enfermedad de Newcastle continúa siendo la principal amenaza de la avicultura mundial. Su control basado en la aplicación de programas de bioseguridad, vacunación y vigilancia epidemiológica constituyen los pilares fundamentales para la prevención de brotes graves de la enfermedad y la toma de medidas de control que eviten la diseminación de la misma. Los resultados demuestran que un ave bien vacunada resiste un desafío de campo, aun mas no se observan mayores signos y baja mortalidad.

La inmunidad mediada por células, en respuesta a la vacunación con el virus de Newcastle, se desarrolla más rápidamente que la inmunidad del tipo humoral. Ha sido demostrado que no existe correlación entre la inmunidad mediada por células y la inmunidad humoral y, que no existe correlación entre la inmunidad mediada por células y la protección de las aves.

En el cuadro n°1 se muestran los promedios aritméticos los títulos de anticuerpos T1:2904 (24 horas de refrigeración) T2: 2063(72 horas de refrigeración) y T3:1885 (144 horas de refrigeración), no observándose diferencias estadísticas, esto se explicaría que si se tiene buenas condiciones de refrigeración , los títulos no se ve afectado.

## VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados y discusión del trabajo se concluye en lo siguiente.

1. Los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle a los 40 días medidos por el método ELISA, no resultaron significativos  $P > 0.05$  teniendo T1: 2904 de promedio, T2: 2063, T3: 1885.
2. Respecto a la variación de los títulos medidos con el coeficiente de variación (CV) en el T1: 87.1, T2: 81.7 y T3: 739 .
3. La refrigeración por un periodo de 6 días en condiciones adecuadas no varía significativamente los resultados.

## VII. RECOMENDACIONES

De los resultados y conclusiones se recomienda lo siguiente:

1. El tiempo de refrigeración de sueros de pollos podría realizarse hasta 6 días sin cambios significativos en los títulos de anticuerpos a través de la prueba de Elisa.
2. La refrigeración de los sueros debe realizarse en forma adecuada a una temperatura de 6 a 8° grados.
3. Para almacenar sueros estos deben ser separados de los coágulos para evitar la hemólisis de los mismos.

### Ilustración 4 MUESTRA DE SANGRE EN VIAL



## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. AHMAD, J.; SHARMA, J.1992. Evaluation of a Modified- Live Virus Vaccine Administered in Ovo to Protect Chickens against Newcastle Disease. Am. J. Vet. Res. 53 (11): 1999- 2004.
2. ALBA, M.; ICOCHEA, E.; SILVA, A.; VIDAL, O.1999. Protección vacunal viva- oleosa en pollos Broilers contra una cepa velogenica viscerotropica del virus de la enfermedad de Newcastle. Memorias del XIV Congreso latinoamericano de avicultura. Lima 18 al 22 de Septiembre. Perú. 45-46 pp.
3. ALEXANDER, D.2001 Newcastle disease. British Poult Sci. 42: 5-22. 2001.
4. ANDRADE, L.; FERNANDEZ, R.; RIVERA, S.1986. Evaluación de diferentes métodos de vacunación contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorde en el estado Zulia, Venezuela. Congreso Latinoamericano de Avicultura. Acapulco, 26- 30 Abril, Mexico. 36-44 pp.
5. BEARD, C.; VILLEGAS, P.; GLISSON, R. 1993.Comparative Efficacy of the B-1 and VG/GA Vaccine Strains against Velogenic Viscerotropic Newcastle Disease Virus in Chickens. Avian Dis. 37: 222-225.
6. BELL, I.; NICHOLLS, P.; NORMAN, C.; COOPER, K.; CROSS, G.1991. The Serological Responses of Chickens to Mass Vaccination with a Live V4 Newcastle Disease Virus Vaccine in the Field and the Laboratory. Meat chickens. Aust. Vet. J. 68 (3): 85- 9.

7. BENNEJEAN, G.; GUITTET, M.1978. Vaccination of One Day- Old Chicks against Newcastle Disease using Inactivated Oil Adjuvant Vaccine and/or Live Vaccine. *Avian Pathol.* 7: 15- 27.
8. CARABAÑO, J. 1999.Efecto de Tres Niveles (100, 200 y 300 ppb) de Aflatoxina B1 sobre los Pollos de Engorde Durante la Etapa de Iniciación (0 a 4 semanas). FCV. UCV. (Trabajo de ascenso) 183 pp.
- 9 EIDSON, C.; THAYER, S.; VILLEGAS, P.; KLEVEN, S.1982. Vaccination of Broiler Chickens from Breeders Folks Immunized with Live or Inactivated oil Emulsion Newcastle Disease Vaccine. *Poult. Sci.* 61(8):1621-9.
11. FERNÁNDEZ, R.2000. La enfermedad de Newcastle. Consecuencias y Repercusión Económica Memorias del Curso de Actualización en Patología Aviar. Maracaibo, 12 Marzo. Venezuela. 55-59 pp.
12. FERNANDEZ, R.; SOL, J.; RAMÍREZ, A.2002. La enfermedad de Newcastle, Control y Experiencias de campo. Memorias del I Seminario de Patología Aviar. Maracaibo 20 y 21 de Octubre. Venezuela. 25 -28 pp.
13. FOLITSE, R.; HALVORSON, D.; SIVANANDAN, V.1998. Efficacy of Combined Killed-in-Oil Emulsion and Live Newcastle Disease Vaccines in Chickens. *Avian-Dis.* 42 (1): 173-178.
14. GIAMBRONE, J.1984. Laboratory Evaluation of Newcastle Disease Vaccination Programs for Broiler Chickens. *Avia. Dis.* 29(2): 479-487.
15. GIAMBRONE, J.; CLOSSER, J.2004. Efficacy of live vaccines against serologic subtype of infections bursal diseases virus. *Avian Dis.* 34: 7-11. 1990. 393 \_\_Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIV, Nº 5, 387 – 394.

16. HOFACRE, C.; VILLEGAS, P.; PAGE, R. 1980. Newcastle Disease Vaccination of Broilers with high and low-titered commercial vaccines. Avian Dis. 30:(3) 623-627.
17. JANEWAY, C. 1999. The Immune System. In: Health and Diseases in Immunobiology. By Elsevier Science Ltd/ Garland Publishing. 4th Ed. 363-366 pp.
18. JAYAWARDANE, G.; SPRADBROW, P. 1995. Cell-Mediated Immunity in Chickens Vaccinated with the V4 Strain of Newcastle Disease Virus. Vet. Microbiol. 46(1-3): 37- 41.
19. JUSTACARA, I. 2002. Evaluación de la Protección Conferida por la Vacuna contra Newcastle Cepa La Sota en Pollos de Engorde, Utilizando Tres Programas. FCV. UCV. (Tesis de Grado) 79 pp.
20. KIRUBAHARAN, J.; ALBERT, A. 2002. Inactivated Vaccines against Newcastle Disease. 3. Cell Mediated Immune Response. Indian-Vet-J 79(4): 320-323.
21. KING, D. A. 1999. Comparison of the Onset of Protection Induced by Newcastle Disease Virus Strain B1 and Fowl Poxvirus Recombinant Newcastle Disease Vaccine to a Viscerotropic Velogenic Newcastle Disease Virus Challenge. Avian Dis. 43: 745-755.
22. MONTIEL, E. 2002. Enfermedades Respiratorias de las Aves. Memorias del I Seminario Zuliano de Patología Aviar. Maracaibo, Venezuela, 20 -21 de Octubre. 29 -32 pp.

23. MORGAN, R.; GELB, J.; POPE, C.; SONDERMEIJER, P.1993. Efficacy in Chickens of a Herpesvirus of Turkeys Recombinant Vaccine Containing the Fusion Gene of Newcastle Disease Virus: Onset of Protection and Effect of Maternal Antibodies. *Avian Dis.* Oct- Dec; 37 (4): 1032- 40.

24.PARTADIREDDA, M.; EIDSON, C.; KLEVEN, S. A Comparison of Immune Response to Different Methods of Vaccination against Newcastle Disease. *Avian Dis.* 23 (3): 622- 33. 1979.

25. POZO,M. 2004. Evaluación de dos planes de vacunación contra la enfermedad de newcastle en pollos de engorde de la línea ross criados bajo condiciones de campo en el estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIV, Nº 4, 331 - 337,*

25.REYNOLDS, D.; MARAQA, A. 2000. Protective Immunity Against Newcastle Disease: The Role of Cell- Mediated Immunity. *Avian Dis.* 44: 145-154. 2000.

26. POLLARD, B.2008. Immune response to simultaneous vaccination of day-old chickens with live and inactivated oilbased Newcastle disease vaccines. *Onderstepoort J. Vet Res.* 49 (2):123-5.

27. WAKENELL, E. 2006 Effect of Infectious Bursal Disease Virus Insult on Iron, Copper, and Zinc Concentration in Liver, Bursa of Fabricius, Spleen, Pancreas, and Serum of Chickens. *Avian Diseases: Vol. 50, No. 2, pp. 303-305.*

## IX. ANEXOS

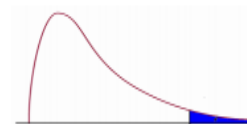
### ANEXO 01 DISTRIBUCION DE F

#### Distribución F 0.05

En las columnas se encuentran los valores F que corresponden al área 0.05 a la derecha

En las columnas se encuentran los grados de libertad del numerador

En los renglones se encuentran los grados de libertad del denominador.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15	20	24	30	40	60	120
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.0	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.94	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.70	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.82	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.72	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.57	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.26	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.24	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.22	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.20	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75

### ANEXO 02 VACUNAS QUE SE UTILIZARON



**ANEXO 03 IDENTIFICACION QUE LA VACUNA AH SIDO CORRECTAMENTE UTILIZADA**



**ANEXO 04 PRUEBA DE DUNCAN**

**ANTICUERPOS**

Duncan<sup>a</sup>

REPETICION

N

Subconjunto para  
alfa = 0.05

		1
2	30	1885,4000
1	30	2063,0333
3	30	2903,7333
Sig.		,060

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30,000.

## ANEXO 5 DUNCAN PARA LAS MEDIAS

### ANTICUERPOS

Duncan<sup>a</sup>

REPETICION	N	Subconjunto para alfa = 0.05 1
2	30	3,1190
1	30	3,1247
3	30	3,3003
Sig.		,119

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 30,000.

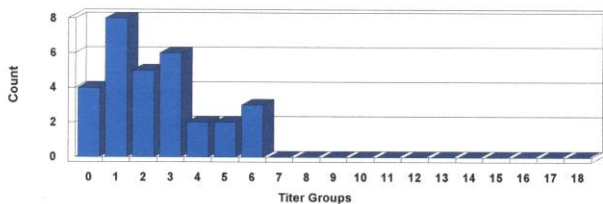
ANEXO 06 RESULTADO T1

Laboratorio FARVET  
Chincha - Ica  
Perú  
25/02/2019



Analyze Case Report

DIANA QUISPE (25.02.19) - NDV



Count: 30  
Mean: 2063  
GMean: 1347  
SD: 1686  
%CV: 81.7  
Min: 188  
Max: 5701  
Tech: LMS  
Date: 25/02/19  
Dil: 1:500

Case: DIANA QUISPE (25.02.19) - 25/02/2019-001

	Well	O.D.	C Age	Mean	S/P	Titer	Group	Result
Neg	A01	0.047		0.047				
Neg	A02	0.047		0.047				
Pos	A03	0.275		0.275				
Pos	A04	0.273		0.273				
1	C11	0.116	0-0	0.116	0.304	626	1	Pos!
2	C12	0.070	0-0	0.070	0.101	188	0	Neg
3	D01	0.104	0-0	0.104	0.251	508	1	Pos!
4	D02	0.085	0-0	0.085	0.167	326	0	Neg
5	D03	0.302	0-0	0.302	1.123	2600	3	Pos!
6	D04	0.319	0-0	0.319	1.198	2789	3	Pos!
7	D05	0.099	0-0	0.099	0.229	459	1	Pos!
8	D06	0.208	0-0	0.208	0.709	1575	2	Pos!
9	D07	0.142	0-0	0.142	0.419	888	1	Pos!
10	D08	0.513	0-0	0.513	2.053	5018	6	Pos!
11	D09	0.265	0-0	0.265	0.960	2191	3	Pos!
12	D10	0.184	0-0	0.184	0.604	1322	2	Pos!
13	D11	0.273	0-0	0.273	0.996	2281	3	Pos!
14	D12	0.147	0-0	0.147	0.441	939	1	Pos!
15	E01	0.157	0-0	0.157	0.485	1041	2	Pos!
16	E02	0.304	0-0	0.304	1.132	2622	3	Pos!
17	E03	0.485	0-0	0.485	1.930	4691	5	Pos!
18	E04	0.075	0-0	0.075	0.123	233	0	Neg
19	E05	0.501	0-0	0.501	2.000	4877	5	Pos!
20	E06	0.410	0-0	0.410	1.599	3821	4	Pos!
21	E07	0.108	0-0	0.108	0.269	548	1	Pos!
22	E08	0.224	0-0	0.224	0.780	1747	2	Pos!
23	E09	0.571	0-0	0.571	2.308	5701	6	Pos!
24	E10	0.135	0-0	0.135	0.388	816	1	Pos!
25	E11	0.518	0-0	0.518	2.075	5076	6	Pos!
26	E12	0.190	0-0	0.190	0.630	1384	2	Pos!
27	F01	0.116	0-0	0.116	0.304	626	1	Pos!
28	F02	0.409	0-0	0.409	1.595	3811	4	Pos!
29	F03	0.335	0-0	0.335	1.269	2970	3	Pos!
30	F04	0.073	0-0	0.073	0.115	217	0	Neg
AMn:					0.885	2063		
GMn:					0.614	1347		
SD:					0.677	1686		
CV:					76.4	81.7		
Min:					0.101	188		
Max:					2.308	5701		

Owner:  
Unknown

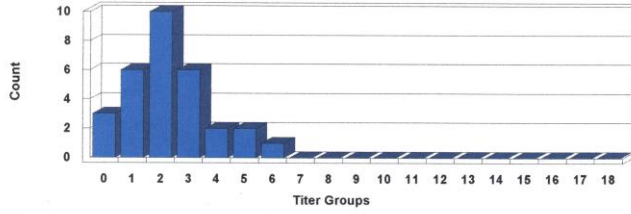
# ANEXO 07 RESULTADO T2

Laboratorio FARVET  
Chincha - Ica  
Perú  
25/02/2019

## Analyze Case Report



DIANA QUISPE (23.02.19) - NDV



Count: 30  
Mean: 1885  
GMean: 1330  
SD: 1393  
%CV: 73.9  
Min: 93  
Max: 5725  
Tech: LMS  
Date: 25/02/19  
Dil: 1:509

Case: DIANA QUISPE (23.02.19) - 25/02/2019-001

NDV - 25/02/19 - LMS - 1:500							
	Well	O.D.	C Age	Mean	S/P	Titer	Group Result
Neg	A01	0.047		0.047			
Neg	A02	0.047		0.047			
Pos	A03	0.275		0.275			
Pos	A04	0.273		0.273			
1	A05	0.103	0-0	0.103	0.247	499	1 Post!
2	A06	0.476	0-0	0.476	1.890	4585	5 Post!
3	A07	0.098	0-0	0.098	0.225	451	1 Post!
4	A08	0.086	0-0	0.086	0.172	336	0 Neg
5	A09	0.411	0-0	0.411	1.604	3834	4 Post!
6	A10	0.153	0-0	0.153	0.467	999	1 Post!
7	A11	0.146	0-0	0.146	0.436	927	1 Post!
8	A12	0.170	0-0	0.170	0.542	1175	2 Post!
9	B01	0.063	0-0	0.063	0.070	126	0 Neg
10	B02	0.459	0-0	0.459	1.815	4387	5 Post!
11	B03	0.302	0-0	0.302	1.123	2600	3 Post!
12	B04	0.238	0-0	0.238	0.841	1897	2 Post!
13	B05	0.318	0-0	0.318	1.194	2779	3 Post!
14	B06	0.231	0-0	0.231	0.811	1823	2 Post!
15	B07	0.259	0-0	0.259	0.934	2127	3 Post!
16	B08	0.331	0-0	0.331	1.251	2924	3 Post!
17	B09	0.128	0-0	0.128	0.357	745	1 Post!
18	B10	0.317	0-0	0.317	1.189	2767	3 Post!
19	B11	0.157	0-0	0.157	0.485	1041	2 Post!
20	B12	0.146	0-0	0.146	0.436	927	1 Post!
21	C01	0.573	0-0	0.573	2.317	5725	6 Post!
22	C02	0.184	0-0	0.184	0.604	1322	2 Post!
23	C03	0.169	0-0	0.169	0.537	1163	2 Post!
24	C04	0.215	0-0	0.215	0.740	1650	2 Post!
25	C05	0.300	0-0	0.300	1.115	2579	3 Post!
26	C06	0.166	0-0	0.166	0.524	1133	2 Post!
27	C07	0.207	0-0	0.207	0.705	1565	2 Post!
28	C08	0.059	0-0	0.059	0.053	93	0 Neg
29	C09	0.371	0-0	0.371	1.427	3375	4 Post!
30	C10	0.154	0-0	0.154	0.471	1008	2 Post!

	S/P	Titer
AMn:	0.819	1885
GMn:	0.607	1330
SD:	0.561	1393
CV:	68.5	73.9
Min:	0.053	93
Max:	2.317	5725

Owner:  
Unknown

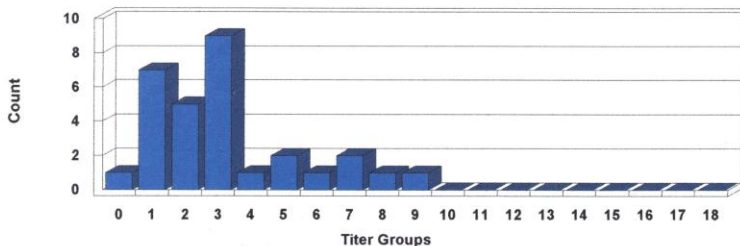
**ANEXO 08 RESULTADO T3**

Laboratorio FARVET  
Chincha - Ica  
Perú  
27/02/2019



**Analyze Case Report**

DIANA QUISPE - 27.02.2019 - NDV



Count: 30  
Mean: 2904  
GMean: 2017  
SD: 2528  
%CV: 87.1  
Min: 307  
Max: 10582  
Tech: LMS  
Date: 27/02/19  
Dil: 1:500

Case: DIANA QUISPE - 27.02.2019 - 27/02/2019-002  
NDV - 27/02/19 - LMS - 1:500

	Well	O.D.	C Age	Mean	S/P	Titer	Group	Result
Neg	A01	0.047		0.047				
Neg	A02	0.047		0.047				
Pos	A03	0.224		0.224				
Pos	A04	0.237		0.237				
1	A05	0.272	0-0	0.272	1.223	2853	3	Pos!
2	A06	0.158	0-0	0.158	0.603	1320	2	Pos!
3	A07	0.205	0-0	0.205	0.859	1941	2	Pos!
4	A08	0.258	0-0	0.258	1.147	2660	3	Pos!
5	A09	0.220	0-0	0.220	0.940	2141	3	Pos!
6	A10	0.141	0-0	0.141	0.511	1102	2	Pos!
7	A11	0.172	0-0	0.172	0.679	1502	2	Pos!
8	A12	0.656	0-0	0.656	3.310	8445	8	Pos!
9	B01	0.171	0-0	0.171	0.674	1490	2	Pos!
10	B02	0.272	0-0	0.272	1.223	2853	3	Pos!
11	B03	0.588	0-0	0.588	2.940	7422	7	Pos!
12	B04	0.368	0-0	0.368	1.745	4203	5	Pos!
13	B05	0.564	0-0	0.564	2.810	7065	7	Pos!
14	B06	0.124	0-0	0.124	0.418	885	1	Pos!
15	B07	0.394	0-0	0.394	1.886	4574	5	Pos!
16	B08	0.129	0-0	0.129	0.446	950	1	Pos!
17	B09	0.264	0-0	0.264	1.179	2741	3	Pos!
18	B10	0.796	0-0	0.796	4.071	10582	9	Pos!
19	B11	0.225	0-0	0.225	0.967	2209	3	Pos!
20	B12	0.094	0-0	0.094	0.255	517	1	Pos!
21	C01	0.106	0-0	0.106	0.321	664	1	Pos!
22	C02	0.098	0-0	0.098	0.277	565	1	Pos!
23	C03	0.311	0-0	0.311	1.435	3396	4	Pos!
24	C04	0.273	0-0	0.273	1.228	2866	3	Pos!
25	C05	0.236	0-0	0.236	1.027	2358	3	Pos!
26	C06	0.111	0-0	0.111	0.348	725	1	Pos!
27	C07	0.076	0-0	0.076	0.158	307	0	Neg
28	C08	0.240	0-0	0.240	1.049	2413	3	Pos!
29	C09	0.464	0-0	0.464	2.266	5588	6	Pos!
30	C10	0.115	0-0	0.115	0.370	775	1	Pos!

	S/P	Titer
AMn:	1.212	2904
GMn:	0.890	2017
SD:	0.969	2528
CV:	79.9	87.1
Min:	0.158	307
Max:	4.071	10582

Owner:  
Unknown