

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. VETERINARIA

Monitoreo serológico de la Enfermedad de Newcastle efectuado en aves domésticas (Gallus gallus) en Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno - 2001.

Tesis para optar por el Título Profesional de MEDICO VETERINARIO

AUTOR

Piero Francesco Ravina Noriega

LIMA – PERU 2005

..	1
RESUMEN .	3
SUMMARY . .	5
CAPITULO I. INTRODUCCIÓN . .	7
CAPITULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .	9
2.1 Agente Etiológico .	9
2.1.1 Clasificación .	9
2.1.2 Estructura .	9
2.1.3 Propiedades Físicas y Biológicas . .	10
2.1.4 Replicación Viral . .	10
2.2 Clasificación de las cepas .	10
2.3 Epidemiología .	11
2.4 Panorama Mundial .	12
2.5 Signos Clínicos . .	12
2.6 Patogenia . .	13
2.6.1 Lesiones Macroscópicas . .	13
2.6.2 Lesiones Microscópicas .	14
2.7 Diagnóstico .	14
2.8 Prevención y Control .	14
CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS . .	17
3.1 Materiales . .	17
3.1.1Sueros: .	17
3.1.2 Tamaño Muestral: . .	17
3.1.3 Estandarización de resultados de la prueba HI. .	18
3.1.4 Fichas .	18
3.2 Métodos y Procedimientos .	19
3.2.1 Recolección de la Muestra: .	19

3.2.2 Procesamiento de las muestras .	19
3.2.3 Análisis de los Datos .	20
3.2.4 Análisis estadístico .	21
CAPITULO IV. RESULTADOS .	23
CAPITULO V. DISCUSIÓN .	27
CONCLUSIONES . .	31
BIBLIOGRAFÍA .	33
ANEXO . .	37

DEDICATORIA A mi madre

RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se analizaron 2775 muestras de suero de aves (*Gallus gallus*) recolectadas en el programa de Monitoreo Serológico realizado en el Perú por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) desde el 27 de agosto del 2001 al 18 de enero del 2002. Las muestras fueron clasificadas de acuerdo al tipo de explotación en: Aves de Postura (n =299), Pollos de Carne (n =704), Aves de Crianza Casera (n =1200) y Aves de Riña (n =492). Para el análisis de resultados se diseñó una tabla de interpretación, la cual con la intervención de un panel de expertos consistió en la estandarización de resultados serológicos de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI), para la enfermedad de Newcastle, de acuerdo a los títulos de anticuerpos obtenidos. El resultado del análisis del total de muestras analizadas dio una frecuencia de 4.7% de aves consideradas positivas las que presentaron títulos de anticuerpos compatibles a desafío de campo al virus de la ENC. El análisis por tipo de explotación dio una frecuencia de 11.71% para las aves de crianza tecnificada de postura y de 3.9% para las aves de crianza no tecnificada casera. El análisis de regresión logística multinomial muestra al grupo de aves de postura como factor de riesgo, asociado al título de anticuerpos de la prueba HI compatible con desafío al virus de la ENC. El presente estudio concluye que el virus de la ENC es endémico en las aves de crianza tecnificada para los departamentos de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno, siendo en esta zona las aves de postura el principal factor de riesgo.

SUMMARY

In the present thesis work has been analyzed 2775 samples of avian serum collected in the serologic screening of Peru done by El Servicio nacional de Sanidad Agraria (Senasa) from August 27 2001 to January 18 2002. The samples were classified according to the type of exploitation in: Layers (n =299) , broilers (n =704), in-house breeding (n =1200) and cock fight breeding (n =492). The analysis of the results was interpreted by the use of a chart of interpretation designed by a panel of experts, which consisted in the standardization of the serologist results of the inhibition of hemoagglutination test (HI), for the Newcastle disease (ND) according to the level of antibody títel obbtained. The result of the analysis of the total of samples analyzed gave a frequency of 4.7% of birds considered positives which presented tittles of antibodies compatibles to a field challenge of the ND virus. The analysis by type of exploitation gave a frequency of 11.71% for the layers and a 3.9% for the in-house breeding. The analysis of multinomial logistic regression shows that the group of layers as a risk factor, associated to the title of antibodies of the HI test compatible to a challenge of the ND virus. The present study concludes that the ND virus is endemic in the layers breeding for the de departments of Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac and Puno.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Newcastle (ENC) es una de las enfermedades más importantes que afectan a las aves, juntamente con la Influenza aviar pertenecen a la Lista A de las enfermedades de la OIE (Oficina Internacional de Epizootias) por tener características epizooticas y consecuencias socioeconómicas graves en corto periodo de tiempo, por ello son de notificación obligatoria a dicho organismo y a las autoridades sanitarias locales.

La producción avícola en nuestro medio es una de las pocas industrias que mantienen un desarrollo sostenido a pesar de todos los cambios a la que ha sido sometida, y esto gracias a su rápido proceso de producción y gran productividad, características claves que le permiten brindar a la población mundial una fuente de proteínas de origen animal, sin embargo este desarrollo genético las ha hecho más susceptibles a sufrir enfermedades, dentro de ellas el virus de la ENC que ocasiona cuantiosas pérdidas económicas a la industria avícola por su elevada mortalidad, morbilidad y gran facilidad de diseminación siendo el principal impedimento de exportación de productos de origen avícola.

La enfermedad es de distribución mundial y presenta un amplio rango de hospederos afectando además de las especies aviares domésticas a más de 236 especies de aves (Alexander 2003) (King, 1999). En Sudamérica fue reportada por primera vez en Venezuela en 1950 por Dive A. y al año siguiente en el Perú por Philipps y colaboradores.

La enfermedad de Newcastle es causada por un virus perteneciente a la familia Paramixoviridae del género Avulavirus (Mayo M. 2002), antigénicamente pertenece a los Paramixovirus aviares de tipo 1 (AMPV-1) existiendo cepas de patogenicidad variable,

pero sin diferencias antigénicas entre ellas (Alexander, 2003), (Rojo, 1991). El genoma viral es un ARN de sentido negativo que codifica seis proteínas siendo las más importantes la hemaglutinina/neuraminidasa (HN) y la de fusión (F) que le confieren al virus las propiedades biológicas de hemaglutinación y fusión celular respectivamente, HN media la adhesión a la membrana de la célula huésped y es responsable de la inducción de inmunidad y F media la penetración celular, el pase de una célula a otra y contribuye también a la inducción de inmunidad. Los anticuerpos inducidos por estas glicoproteínas de superficie pueden ser detectados por pruebas de Virus neutralización (VN), ELISA e inhibición de la hemoaglutinación (HI) . (Alexander 2003). OIE señala a la prueba de HI como la prueba oficial de detección de anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle porque puede ser aplicada a cualquier especie de ave (OIE Manual)

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) ha reportado brotes de aislamiento de virus de la ENC en el Perú, Siendo de interés el ocurrido en el departamento de Moquegua en el mes de septiembre del 2002 (Resolución Directoral N°051-2002-AG-SENASA-MOQUEGUA). Lo que muestra que la enfermedad esta presente en los departamentos en estudio.

El SENASA y asociaciones avícolas vienen llevando a cabo acciones para la erradicación de las formas velogénicas de la enfermedad; como parte de esas actividades se llevó a cabo un Programa de Vigilancia sanitaria que realizó un monitoreo serológico mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) en aves de crianza tecnificada (pollos de carne y aves de postura) y de crianza no tecnificada (aves de riña y de crianza casera) de los departamentos de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno, estudio que fue realizado en el periodo comprendido entre el 27 de agosto del 2001 al 18 de enero del 2002, cuyos resultados fueron analizados en el presente estudio.

Un resultado positivo en la prueba HI solamente indica una exposición a los antígenos del virus de la ENC, donde las aves pudieron haber sido expuestas por desafío de campo o por vacunación. Por ese motivo, se diseñó una tabla de interpretación de resultados de la prueba HI, mediante la participación de profesionales con experiencia en el análisis de esta prueba, para definir los títulos de anticuerpos que eran indicativos de reto de campo teniendo como referencia el programa y tipo de vacuna que había sido utilizado ya sea con virus activo y/o virus inactivado.

La enfermedad de Newcastle está presente en nuestro país, por lo que es necesario conocer cuales son los principales reservorios de esta enfermedad, se sospecha al igual que en otros países que a las aves silvestres, (Carión, 2000; Shimabukuro, 2000; Chang, 1998), aves de riña y las aves de crianza casera Jugarían un rol importante en la diseminación de la enfermedad favoreciendo la presentación de los brotes.

El presente estudio tuvo por objetivo determinar la frecuencia de títulos de anticuerpos compatibles con desafío de campo al virus de la enfermedad de Newcastle en las aves de postura comercial, de carne, de traspatio y de riña, (Aves domésticas *Gallus gallus*) y la forma de crianza de más riesgo en los departamentos de la costa y sierra sur del Perú mediante la regresión logística multinomial.

CAPITULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Agente Etiológico

2.1.1 Clasificación

La enfermedad de Newcastle es causada por un virus perteneciente a la familia Paramixoviridae del nuevo género Avulavirus antiguamente clasificado como un Rubulavirus (Mayo M. 2002). Nueve serogrupos del paramyxovirus aviar son reconocidos: del AMPV-1 al AMPV-9, siendo la ENC el AMPV-1. Las cepas del virus de la enfermedad de Newcastle muestran patogenicidad variable, pero no existen diferencias antigénicas entre ellas (Alexander, 2003), (Rojo, 1991)

2.1.2 Estructura

El genoma viral esta compuesto de una sola cadena ARN de sentido negativo de aproximadamente 15 kbp codificando seis polipéptidos mayores en la dirección 5' a 3' que incluyen: ARN-polimerasa (L), hemaglutinina-neuraminidasa (HN), proteína de fusión (F), proteína de matriz (M), fosfoproteína (P) y nucleoproteína (N), (Yu, 2001).

2.1.3 Propiedades Físicas y Biológicas

- Actividad Hemaglutinante: La proteína HN, es la responsable de la actividad hemaglutinante del virus, logrando su adhesión a los receptores presentes en los eritrocitos. Los anticuerpos que se producen para esta proteína inhiben eficientemente la capacidad de aglutinar eritrocitos y así neutraliza la capacidad infectiva del virus (Alexander 2003).

Los anticuerpos protectivos son inducidos por esta proteína.

- Fusión Celular: Esta propiedad ocurre gracias a la proteína F que es responsable de la adhesión de la membrana del virus con la membrana de la célula huésped durante el ciclo de replicación y es responsable del pase del virus de una célula a otra sin tener que salir al líquido extracelular, también es responsable de la patogenicidad del virus. (Alexander 2003)

La respuesta inmune inducida en contra de esta glicoproteína previene en gran medida la diseminación del virus de una célula a otra, sin embargo estos anticuerpos no neutralizan efectivamente al virus y no son protectivos.

2.1.4 Replicación Viral

La estrategia utilizada para la replicación del virus de la enfermedad de Newcastle, es como la mayoría de virus de sentido negativo.

El primer paso es la unión de virus con la célula receptora mediante el polipéptido HN, la fusión de las membranas del virus y la célula se ve posibilitada por la proteína F que permite al complejo nucleocápside entrar en la célula.

Toda la replicación se lleva a cabo en el citoplasma, por el sentido negativo del ARN viral que da lugar a una ARN polimerasa (transcriptasa) que forma una copia complementaria en sentido positivo que actúa como ARN mensajero que usará los mecanismos normales de la célula para crear genoma y proteína viral, las proteínas serán transportadas a la membrana celular y saldrán con las partículas virales (Alexander 2003)

2.2 Clasificación de las cepas

Todas las cepas pertenecen a un mismo serotipo y se clasifican de la siguiente manera:

- Lentogénica Son cepas de baja patogenicidad (ejemplos: B-1, F, La Sota), son usadas como cepas vacunales. Producen una enfermedad respiratoria muy suave que corresponde a la reacción post vacunal (Alexander, 2003; Morales, 1995).

En ponedoras pueden ocasionar bajas en la producción de huevos, huevos de cáscara rugosa o deformada (AAAP, 1996).

- Mesogénica Son cepas moderadamente patógenas, producen signos respiratorios y nerviosos agudos y no ocasionan mortalidad en las aves adultas. (Ejemplo: cepa Roakin)(Villegas, 1995)

- Velogénicas Son cepas marcadamente patógenas que pueden causar alta mortalidad en aves de cualquier edad, se dividen en:

- Viscerotrópicas: que producen la forma más severa y aguda de la enfermedad, se observan episodios de diarrea y muerte (Ejemplo: cepas Milano, Herts y GB). (A.A.A.P. 1996; Morales, 1995; Baes, 1994)

- Neurotrópicas: Producen alta mortalidad y predominan los signos nerviosos como opistótonos y parálisis (Ejemplo: cepa Texas GB)(Banerjee 1994; Alexander, 2003; Avellaneda 1994)

- Asintomático: Estas cepas no producen enfermedad ni signos clínicos de ningún tipo. (Ejemplo: cepas Ulster 2C, V4 y VG/Georgia).(Alexander, 2003; Avellaneda, 1994)

2.3 Epidemiología

El virus de la ENC infecta al menos 236 especies de aves en todos los continentes. En cuanto a la susceptibilidad de las líneas de aves de traspatio y las líneas comerciales. Cherdahai (1988), establece que las aves de crianza casera son más resistentes que las líneas comerciales, mientras Higgins y Shtridge (1988) dicen que no hay evidencia para diferenciar la susceptibilidad entre aves de crianza casera y las líneas comerciales.

No se conoce la totalidad de los reservorios del virus de la ENC (King, 2002), sin embargo muchas especies de aves silvestres han sido responsabilizadas de participar en brotes de la enfermedad. En el departamento de Lima se han realizado estudios buscando niveles de anticuerpos que indiquen reto con el virus de la ENC con resultados negativos en aves silvestres de las ordenes Columbiformes, Paseriformes y Psitaciformes (Carrión, 2000; Shimabukuro, 2000; Chang, 1998). En países donde la crianza casera es masiva, la enfermedad es endémica, siendo estas aves las responsables de la aparición de brotes repentinos en crianzas industriales (Alva, 2001).

La materia fecal y los aerosoles son las principales vías de eliminación del virus (Morales, 1995). El virus al penetrar la cáscara después de la postura demuestra que la transmisión vertical es controversial. (Alexander, 2003; Chen et al, 2002). Se excreta el virus antes de la manifestación de los signos clínicos. Algunas aves vacunadas no muestran los signos de un desafío a virus virulento pero igual diseminan el virus (Fenner, 1992). Las formas de transmisión más comunes son: la introducción de aves infectadas al plantel genético, la importación de mascotas u otras aves infectadas, la introducción de aves infectadas a galpones susceptibles (Alexander, 2003)., Las canales de las aves infectadas, los humanos como vectores mecánicos, equipos mecánicos y la diseminación dentro del galpón o entre galpones cercanos por vía aerógena. (Bains B. 1979).

La diseminación de la ENC en crianzas industriales es más rápida que en crianzas

no tecnificadas donde el virus puede demorar semanas en pasar de un lote a otro y meses en expandirse por la localidad. La epidemiología en ambos sistemas de producción es diferente y la ocurrencia de la enfermedad es dependiente de la combinación de factores como edad, exposición previa al virus, condiciones de manejo entre otros, por lo tanto, la presencia de una cepa patogénica es un factor necesario pero no suficiente (Martin, 1991).

2.4 Panorama Mundial

Fue detectada por primera vez en Java, Indonesia en 1926 y de ahí se difundió al resto del mundo, siendo una de las enfermedades aviares más devastadoras, pudiendo ocasionar hasta 100% de mortalidad en los lotes afectados (Blaha 1995).

Brotos severos fueron reportados en el año 1995 en América latina, gracias a los programas de vacunación, estos brotes han disminuido pero no erradicado, al contrario de lo que algunos piensan (Villegas, 1995).

El virus de la ENC se encuentra a nivel mundial (Ritchie, 1994) y desde que fue reconocida la enfermedad han ocurrido cuatro panzootias, la última iniciada en la década de los 90s (Yu, 2001). La distribución de la ENC esta en relación a los esfuerzos de erradicación y control llevados a cabo por los diferentes países, el éxito de tales medidas depende de la naturaleza de su industria avícola (Alexander, 2003). La ENC es enzoótica en muchos países con una significativa población avícola de crianzas no tecnificada, y es probable que sea enzoótica dentro de regiones individuales y aun localidades (Bell y Mouldin, 1988).

En el Perú, la enfermedad de Newcastle está presente (Shimabukuro, 2000), habiéndose reportado brotes violentos en el departamento de Lima (Carrión, 2000) cuyas causas se pueden describir como fallas en la bioseguridad (Van den Wijngaard, 1996). Inga (1991) y Cortez (1970) clasificaron la ENC como una de las principales enfermedades diagnosticadas en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2.5 Signos Clínicos

No existe ninguna lesión patognomónica asociada con alguna forma de la enfermedad, los anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle son detectables en el suero dentro de los 6 a 10 días post contacto (Comotto G. 2000)

Podemos agrupar los patotipos basándonos en los signos clínicos que son expresados por las cepas del virus. Otro factor a tener en cuenta es la especie del hospedero, su estado inmune, otras infecciones coexistentes, edad, estrés, vía de exposición y la dosis viral (Alexander, 2003).

Si es de aparición rápida y alta mortalidad pero sin signos clínicos, será indicativo de una cepa altamente virulenta.

La observación de diarreas verdes es común en aves que no murieron en una infección temprana, también se observa torticolis, parálisis de alas y patas, temblores musculares y opistótonos.

Cepas Mesogénicas: por lo general causan problemas respiratorios en infecciones de campo, marcada baja de postura por varias semanas, puede haber signos nerviosos pero es poco frecuente y la mortalidad es usualmente baja (Alexander, 2003)

Cepas Velogénicas Neurotrópicas: se observan severos trastornos respiratorios seguidos de dos días de trastornos neuronales, la postura cae dramáticamente, no hay diarrea, la morbilidad es del 100% y la mortalidad es de 50% en adultas y 90% en aves susceptibles jóvenes. (Alexander, 2003)

Cepas Lentogénicas: Normalmente no causan enfermedad en adultos pero en jóvenes susceptibles puede causar serios problemas respiratorios llegando a presentar mortalidad (Alexander, 2003). Se usan como vacunas y causan un leve cuadro respiratorio llamado reacción post vacunal.

2.6 Patogenia

El virus se replica inicialmente en el epitelio de la mucosa de los tractos respiratorio y digestivo, se difunde vía hemática al bazo y medula ósea produciendo la viremia secundaria, llegando a otros órganos blanco como el pulmón, los intestinos y el sistema nervioso central.(Fenner 1992)

2.6.1 Lesiones Macroscópicas

No se observan cambios significativos en el sistema nervioso central de las aves infectadas con el virus, no importando el tipo de cepa.

No siempre tendremos presencia de cambios patológicos en el tracto respiratorio pero se observa un predominio de hemorragia y una marcada congestión de la mucosa de la traquea.

Aunque la cepa sea de moderada virulencia se observará con frecuencia aerosaculitis, engrosamiento de los sacos aéreos con exudado catarral o caseoso, que están asociados a infecciones bacterianas secundarias.

Las aves en postura infectadas con el virus pueden presentar postura interna que se manifiesta por presencia de yema de huevo dentro de la cavidad abdominal, los ovarios están flácidos y puede verse degeneración, hemorragias y decoloración de los otros órganos sexuales. (Alexander, 2003).

2.6.2 Lesiones Microscópicas

En el sistema nervioso los hallazgos histopatológicos más comunes son: encefalomielitis no supurativa con degeneración neuronal, infiltración perivascular de linfocitos e hipertrofia de las células endoteliales. Estas lesiones se ubican generalmente en el cerebelo, en la medula y rara vez en el cerebro.

Alteraciones vasculares como congestión, edema y hemorragia, presentes en vasos sanguíneos de diversos órganos

Hialinización de las arteriolas y capilares que conlleva a cuadros de trombosis y necrosis endotelial en pequeños vasos sanguíneos.

En el tracto intestinal se observa hemorragia y necrosis de la mucosa y agregados linfoides que aparecen con algunas de las cepas virulentas.

En el tracto respiratorio los cilios traqueales están ausentes después de dos días de infección con algunas cepas.

Edema, congestión e infiltración linfocitaria densa estarán presentes en el tracto respiratorio alto. (Alexander, 2003)

2.7 Diagnóstico

El principal valor del diagnóstico reside en poder tomar las decisiones y medidas de control adecuadas y oportunas. No es factible realizar un diagnóstico clínico definitivo, requiriendo siempre de la ayuda del laboratorio. (Morales, 1995)

El aislamiento se puede realizar en embriones de pollo de nueve a once días de edad, procediendo luego a la identificación del virus mediante la prueba de neutralización viral e inhibición de la hemoaglutinación. (Alexander, 2003; Rojo, 1991).

El aislamiento e identificación viral que se realiza por medio de técnicas inmunohistológicas ofrece un método rápido para la demostración de la presencia del agente viral o sus antígenos en órganos y tejidos.

También se puede usar técnicas de inmunofluorescencia de pequeñas partes de traquea. (Alexander, 2003; Rojo, 1991).

Las pruebas exológicas pueden detectar anticuerpos específicos en el suero de las aves. Las pruebas que tuvieron mejor correlación fueron La Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) y la Inhibición de la Hemoaglutinación (HI) (Alexander, 2003).

2.8 Prevención y Control

La prevención y control de la enfermedad de la ENC se logra con la implementación de medidas que identifiquen y eliminen reservorios además de controlar las posibles fuentes de difusión (Alva, 2001), a través de restricciones en la importación de aves vivas y productos avícolas, erradicación de la forma velogénica de la ENC con programas que incluyen la eliminación de parvadas que hayan sufrido brotes de la enfermedad, practicas de bioseguridad y de la implementación de programas de vacunación con virus activo e inactivado (Dafour-Zavala, 1994), método que se ha venido utilizando desde 1940 para reducir las perdidas provocadas por la enfermedad (Beard, 1983).

CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Sueros:

Para el presente estudio se analizaron un total de 2775 sueros provenientes de las aves de crianza tecnificada (pollos de carne y aves de postura) y de crianza no tecnificada (aves de riña y de crianza casera) de la especie *Gallus gallus* (gallina doméstica) que fueron colectados para el monitoreo exológico realizado en el Programa de Vigilancia sanitaria que realizó el SENASA, en los departamentos de Ica, Moquegua, Tacna, Junín, Ayacucho, Huancavelica, Cuzco, Apurímac y Puno en el periodo comprendido entre el 27 de agosto del 2001 al 18 de enero del 2002.

3.1.2 Tamaño Muestral:

El tamaño mínimo de la muestra fue calculado según la fórmula

$$N = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

N = tamaño muestral

p = prevalencia (0.5)

Z = 1.96 (desvió estándar con 95% de confianza)

q = (1-p)

d = precisión

N = 384 resultados de pruebas.

El tamaño muestral para el presente estudio fue de 2775, superando ampliamente el mínimo requerido para determinar la prevalencia de aves con niveles de anticuerpos indicativos de desafío con el virus de la ENC mediante la prueba HI, tanto en crianza industrial como en crianza no tecnificada

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{Numero de animales reactivos}}{\text{Total población muestreada}}$$

3.1.3 Estandarización de resultados de la prueba HI.

El valor del método de diagnóstico exológico es dependiente del número de aplicaciones de vacuna y tipo de vacunas empleadas en las aves. De acuerdo a esto la interpretación de resultados de la evaluación exológica varía, por tal motivo al no existir una tabla de interpretación referencial se diseñó con la colaboración de profesionales con experiencia en el análisis de la prueba de HI, una tabla de estandarización de resultados de la prueba HI para definir que títulos de anticuerpos eran indicativos o compatibles con reto de campo al virus de la ENC, teniendo en cuenta el programa y el tipo de vacuna que había sido utilizado (virus activo y virus inactivado).

La tabla de estandarización de resultados de la prueba HI que fue elaborada según el título de anticuerpos contra el virus de la ENC, de acuerdo a esta tabla los resultados de títulos de anticuerpos individuales podían ubicarse dentro de los siguientes rangos: Positivo, sospechoso o negativo a reto de campo con el virus de la ENC.

3.1.4 Fichas

Las fichas que se usaron para el estudio consignan la información recolectada por el monitoreo que realizó el SENASA, que poseen la información detallada de cada ave examinada: Ubicación, propietario, raza o línea genética, tipo de explotación, programa de vacunación, número de vacunas empleadas, tipo de vacunas empleadas sea vivas y/o

inactivadas y vía de aplicación.

Ver Apéndice

3.2 Métodos y Procedimientos

3.2.1 Recolección de la Muestra:

Las muestras de suero fueron colectadas por personal del SENASA en el periodo de tiempo comprendido entre el 31 de agosto del 2001 al 1 de marzo del 2002, y tomadas a partir de la vena alar de las aves de crianza tecnificada, traspatio y de riña, en los departamentos de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno.

3.2.2 Procesamiento de las muestras

Las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Patología Aviar de la FMV de la UNMSM y analizadas para detectar anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación por la prueba de la Inhibición de la hemoaglutinación

Procedimiento de la prueba: Se siguió la técnica descrita por Alexander, 1998. que se detalla a continuación:

1. Se colocó 25 µl de suero fisiológico en cada celdilla de la micro placa
2. Se adicionó 25 µl de la muestra de suero en las 12 celdillas de la primera fila
3. Usando el micro dilutor se procedió a las diluciones seriadas de 1:2 hasta 1:256
4. Se le agregó 25 µl de antígeno del virus de la enfermedad de Newcastle
5. Se incubó a temperatura ambiente por 15 minutos
6. Se adicionó 25 µl de glóbulos rojos al 0.7%
7. Se incubó por 30 minutos
8. Se realizó la lectura visual

Reacción positiva: Está dada por la formación de un botón en el fondo de la placa, este botón está compuesto por glóbulos rojos no hemaglutinados debido a la presencia de anticuerpos en el suero sanguíneo que impiden la actividad hemaglutinante del antígeno viral.

Reacción Negativa: Formación de una malla en el fondo de la placa debido a la ausencia de anticuerpos en el suero sanguíneo que impidan la aglutinación eritrocitos por el antígeno viral.

3.2.3 Análisis de los Datos

Cada muestra de suero remitida por el SENASA al laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la U.N.M.S.M. para su procesamiento vino acompañada de una ficha que consignaba toda la información referente a la muestra.

De cada ficha se tabuló la siguiente información :

- Ubicación geográfica.
- Tipo de explotación (pollo de carne, ponedora comercial, ave de riña, y crianza casera.)
- Línea genética.
- Programa de vacunación: Número y tipo de vacunas aplicadas.
- Título de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle indicado por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) en sus respectivas diluciones

Se eligió un panel de cuatro expertos conformado por: Dra. Eliana Icochea D'Arrigo, Dr. Arturo Salas Serrano, Dra. Sonia Cortez de Jackel, Dra. Mónica Alba Chinchá, para estandarizar la interpretación de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI)

Se tabularon los resultados, de acuerdo a la tabla de interpretación que se expone a continuación. (Tabla 1)

(Tabla 1) Tabla de interpretación de resultados de títulos de anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (hi) con 8 unidades hemaglutinantes de antígeno.

Grupo de vacuna	Programa de vacunación	Resultado de la prueba HI	Títulos individuales
1	Ninguna	Negativo:	1:2
		Sospechoso:	1:4
		Positivo:	1:8
2	1 vacuna atenuada	Negativo:	1:8
		Sospechoso:	1:16
		Positivo:	1:32
3	2 a 3 vacunas atenuadas	Negativo:	1:16
		Sospechoso:	1:32
		Positivo:	1:64
4	4 a 5 vacunas atenuadas	Negativo:	1:32
		Sospechoso:	1:64
		Positivo:	1:128
5	1 vacuna atenuada más 1 vacuna inactivada	Negativo:	1:16
		Sospechoso:	1:32
		Positivo:	1:64
6	1 a 2 vacunas atenuada más 1 a 3 vacunas inactivadas	Negativo:	1:32
		Sospechoso:	1:64
		Positivo:	1:128
7	3 a 5 vacuna atenuada más 1 a 2 vacuna inactivada	Negativo:	1:128
		Sospechoso:	1:256
		Positivo:	1:512

Los títulos de anticuerpos fueron clasificados dentro de los rangos positivo, sospechoso y negativo asignándoles los siguientes valores:

Resultado	Valor asignado
Positivos	2
Sospechosos	1
Negativo	0

3.2.4 Análisis estadístico

Se analizaron los resultados de la prueba de la HI para obtener la prevalencia de aves con títulos positivos, sospechosos y negativos de cada tipo de explotación, juntamente con sus intervalos de confianza. La prueba de Chi² se uso con la finalidad de comparar los datos tabulados usando una hoja de cálculo Excel 98 de Microsoft y la regresión logística multinomial, esto permitió ver la asociación entre las variables y el impacto de

cada una de ellas controlando al resto

CAPITULO IV. RESULTADOS

Se analizaron un total de 2775 resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle realizada en el periodo comprendido entre el 27 de agosto del 2001 al 18 de enero del 2002, en muestras procedentes de aves de postura comercial, de carne, de traspatio y de riña, (Aves domésticas Gallus gallus) de los departamentos de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno, en estudio.

Tabla 2.- Número y porcentaje de aves examinadas por la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle clasificadas de acuerdo al tipo de explotación.

Tipo de Explotación	n	%
Aves de Riña	492	17.7
Crianza Casera	1200	43.2
Pollos de Carne	704	25.4
Postura	299	10.8
No Indica	80	2.9
Total:	2775	100.0

Tabla 3: Número y porcentaje de aves examinadas por la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle clasificadas por departamentos.

Monitoreo serológico de la Enfermedad de Newcastle efectuado en aves domésticas (*Gallus gallus*) en Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y

Departamento	n	%
Apurímac	210	7.6
Arequipa	694	25.0
Ayacucho	195	7.0
Cuzco	219	7.9
Huancavelica	140	5.0
Ica	574	20.7
Junín	300	10.8
Moquegua	162	5.8
Puno	80	2.9
Tacna	201	7.2
Total:	2775	100.0

Tabla 4: Número y porcentaje de aves examinadas por razas o línea genética.

Línea Genética	n	%
Americana	43	1.55
Aves de Corral	2067	74.49
Aves de Riña	93	3.35
Bovans Nera	69	2.49
Cobb	233	8.40
Hisex Brown	20	0.72
Hy Line	92	3.32
Isa Brown	10	0.36
Lohman Brown	10	0.36
Ross	76	2.74
Sumatra	26	0.94
Tetra SL	36	1.30
Total :	2775	100.00

Los resultados de títulos de anticuerpos fueron clasificados dentro de los rangos positivo, sospechoso y negativo de haber sufrido un reto con virus de la enfermedad de Newcastle. Estos resultados se muestran en el cuadro siguiente:

Tabla 5: Número total de muestras con resultados considerados como positivo, sospechoso o negativo a la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle.

Diagnóstico	n	%
Negativo	2531	91.2
Sospechoso	114	4.1
Positivo	130	4.7

Con estos resultados la frecuencia general de aves positivas a anticuerpos al virus

de la enfermedad de Newcastle del estudio, fue de 4.7%.

Tabla 6: Número total y porcentaje de muestras con resultado positivo a la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle clasificadas por departamentos.

Departamento	Positivo	%
Apurímac	32	15.2
Arequipa	57	8.2
Ayacucho	0	0.0
Cuzco	8	3.7
Huancavelica	0	0.0
Ica	5	0.9
Junín	0	0.0
Moquegua	0	0.0
Puno	4	5.0
Tacna	24	11.9
Total:	130	4.7

Tabla 6 – 1: Número de aves con resultados positivos por tipo de explotación en los departamentos de Arequipa, Tacna y Apurímac que fueron los que presentaron el mayor numero de muestras positivas

Departamento	Tipo de Explotación	Positivos	%
Apurímac	Aves de Riña	1	7.7
	Crianza Casera	26	19.0
	Pollos de Carne	5	8.3
	Postura	0	0.0
Tacna	Aves de Riña	0	0.0
	Crianza Casera	6	6.1
	Pollos de Carne	13	15.7
	Postura	5	25.0
Arequipa	Aves de Riña	0	0.0
	Crianza Casera	15	4.4
	Pollos de Carne	17	8.9
	Postura	25	21.9

Tabla 7: Número total de muestras con resultado positivo a la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle clasificadas por tipo de explotación.

Monitoreo serológico de la Enfermedad de Newcastle efectuado en aves domésticas (*Gallus gallus*) en Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y

Tipo de Explotación	Muestras examinadas	Positivos	%
Aves de Riña	492	1	0.2
Crianza Casera	1200	47	3.9
Pollos de Carne	704	43	6.1
Postura	299	35	11.7
No Indica	80	4	5.0
Total:	2,775	130	4.7

Tabla 8: Regresión logística multinomial en muestras positivas y sospechosas a la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle.

Diagnóstico	Tipo de Explotación	Riesgo	p
	Aves de Riña	1	
	Crianza Casera	4.2	0.002
Sospechoso	Pollos de Carne	5.9	0.000
	Postura	8.0	0.000
	Crianza Casera	20.7	0.003
Positivo	Pollos de Carne	33.5	0.001
	Postura	69.7	0.000

CAPITULO V. DISCUSIÓN

Aun cuando la explotación avícola tecnificada posee una población mucho mayor a la no tecnificada, en el presente estudio dentro de los dos tipos de explotación muestreados, tecnificado (postura y carne) y no tecnificado (riña y traspatio) se analizó un número considerablemente mayor de aves de crianza no tecnificada (1692 versus 1003) y esto es debido a que en la industria las granjas avícolas se trabajan por lotes los que se consideran como un todo y que independientemente de la población que tengan la muestra para pruebas exológicas es de un pequeño porcentaje del total de la población siendo de no mas de 35 y no menos de 25 aves, mientras que en la crianza no tecnificada al encontrarse en pequeños núcleos separados los animales se consideran como individuos requiriendo muchas veces muestrear el 100% de las aves.

Del total de 2775 aves examinadas por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para detectar anticuerpos al virus de la enfermedad de Newcastle se obtuvo una frecuencia total de aves con niveles de anticuerpos compatibles a desafío de campo con el virus de la ENC, de 4.7% notándose que la crianza tecnificada de aves ponedoras tuvo la mayor frecuencia 11.71% respecto a su población que los demás tipos de crianza. En el Perú no hay estudios previos similares a los del presente estudio y los resultados obtenidos indican que el virus de la ENC se encuentra endémico en los departamentos bajo estudio, teniendo la enfermedad como principales hospedadores a las aves de crianza tecnificada, siendo las aves de postura comercial las mas afectadas. Así mismo evidencia los desafíos de campo a los que son constantemente expuestos los lotes de postura. Estos retos virales probablemente son consecuencia del quiebre o falta de sistemas de bioseguridad en los galpones por el sistema diario de comercialización de

huevos de consumo haciendo que estas aves sean las mas expuestas al virus dentro de las aves de crianza tecnificada. De otro lado por la mayor susceptibilidad al virus tal como fue obtenido en estudios de desafío donde la mortalidad en las pollitas de postura llegó al 100% a los 6 días post desafío en comparación al 30 a 60% obtenido en pollos de carne (Icochea, 1999; Alba, 1999) esta mayor susceptibilidad hace que la patogenicidad viral sobrepase la protección ejercida por las múltiples vacunas aplicadas contra este agente.

Por el contrario, la frecuencia en las aves de crianza casera fue menor 3.92% en la zona comprendida en el estudio, posiblemente debido a que este tipo de aves en la zona en estudio esta distribuida en pequeños núcleos relativamente aislados.

Para que el virus pueda mantenerse endémico tiene que contar con la presencia de aves susceptibles (Martín 1991) no vacunados, esto no ocurre en explotaciones de postura comercial que son las que en este estudio han presentado la mayor prevalencia, sin embargo es conocido que aves vacunadas pueden tornarse susceptibles a sufrir una enfermedad clínica cuando condiciones de estrés de producción, medioambiental o alimenticio inciden sobre las aves. El ciclo de diseminación viral debe ser continuo para tener la permanencia del virus y que las aves infectadas tengan la posibilidad de contagiar a las aves susceptibles.

La exposición de los lotes al virus de la enfermedad de Newcastle es consecuencia de movimiento de aves enfermas o convalecientes sumado a la falta de notificación de los brotes por temor de los productores y a la comercialización del guano de esas aves con fines agrícolas sin el tratamiento respectivo para la inactivación viral incrementando la contaminación del ambiente. En el caso de la crianza tecnificada, si el lote de aves cuenta con un programa de vacunación de aplicación a todas las aves, esto supondría cortar el ciclo de diseminación viral al no haber aves susceptibles, sin embargo los resultados de alta prevalencia de seroconversión en aves de postura obtenidos en el presente trabajo indican la presencia del virus en los sectores de crianza tecnificada indicando posibles fallas de manejo, vacunación y falta de bioseguridad en dicho tipo de crianza.

El análisis de regresión logística multinomial muestra que el tipo de crianza tecnificada representa un factor de riesgo estadísticamente asociado a tener un desafío con el virus de la ENC. Donde un ave de crianza tecnificada de Postura tiene 69.71 veces más riesgo de desarrollar anticuerpos (que indican desafío con el virus de la ENC) respecto a un ave de crianza no tecnificada, en especial un ave de Riña. Estos resultados, son contrarios con las observaciones hechas por otros investigadores sobre el tipo de crianza que estaría frecuentemente afectado por los brotes de la enfermedad (Icochea, 2003) Así mismo en un estudio en Alemania realizado en 1993, el total de los 133 brotes ocurrieron en crianzas casera (Alexander 1996).

En la crianza tecnificada, los pollos de carne obtuvieron para el estudio, títulos de anticuerpos compatibles a un reto de la enfermedad dando una frecuencia de 6.1%. En este caso los factores que estarían contribuyendo a tales resultados serian básicamente fallas en los esquemas de bioseguridad, la falta de concientización de los galponeros y trabajadores, sumado a la ubicación de los galpones en zonas densamente pobladas con alto tránsito de personas o vehículos, fallas en el sistema de vacunación y la falta de notificación de los brotes de la enfermedad.

Las aves Ponedoras comerciales, tienen mas tiempo de vida útil a diferencia de las aves de Carne, por lo tanto es de suponer que el virus si se encuentra presente tendrá más oportunidad de permanecer. Con el análisis del presente estudio queda demostrado que en este tipo de crianza el virus tiene mayor frecuencia que las otras explotaciones en los departamentos estudiados, que son: Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno.

Las aves de crianza casera, representaron el 43.2% de las muestras analizadas, teniendo la particularidad de proceder de crianzas aisladas, no contar con un sistema de sanidad, ni con vacunas, ni con alta densidad poblacional, la alimentación muchas veces no es la óptima, requiriendo mas tiempo para el engorde y, por lo tanto, mayor permanencia de las aves en las áreas destinadas a su cría, siendo estas áreas (por su proximidad a las comunidades) susceptibles al ciclo de diseminación de cualquier enfermedad.

El presente trabajo ha determinado una frecuencia de 3.92%, para la crianza casera por lo que podemos afirmar que estas aves representan un menor riesgo como reservorios virales.

Las aves de riña fueron las que presentaron la frecuencia más baja 0.20% de aves positivas a la enfermedad de Newcastle, y esto probablemente por que muchos de os departamentos comprendidos en el estudio están ubicados en la sierra donde las peleas de gallos no son frecuentes. Se sabe que en las peleas de gallos y en las exposiciones de los mismos confluyen criadores de diversos lugares, también es una práctica común el intercambio de ejemplares entre criadores, facilitando de esta manera la dispersión del virus. Pero en el presente estudio realizado en el 2001 contrariamente a lo obtenido en otros estudios se demuestra que en esta zona no representan un factor de riesgo.

El estudio se basó en la determinación de niveles de anticuerpos obtenidos mediante la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación, resultado que se debe a la respuesta inmune activa a la vacunación o al desafío viral en campo, sin embargo estos resultados exológicos no necesariamente evidencian enfermedad clínica o severidad de enfermedad en las aves examinadas. La enfermedad clínica o severidad es la consecuencia de falta de protección por insuficiente dosis vacunal, uso de vacunas vencidas, escaso número de aplicaciones o interacción con agentes inmunosupresivos como los virus de Gumboro, Agente de la Anemia del pollo, de la Enfermedad de Marek o con factores asociados a estrés. Con respecto a la inmunidad debe tomarse en cuenta que un titulo bajo de anticuerpos no necesariamente indica una menor protección frente a un desafío con el virus de campo, ya que existen otros mecanismos de defensa aparte de la inmunidad humoral.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten concluir que el virus de la enfermedad de Newcastle está presente en forma endémica en las explotaciones avícolas, representando las aves de postura comercial el mayor riesgo para la crianza industrializada, porque aún cuando la vacunación es total en este tipo de industria, hay muchos factores que pueden conducir a un quiebre en los programas de vacunación.

CONCLUSIONES

- La frecuencia de aves con títulos compatibles a la ENC obtenida para el estudio fue de 4.68%. Correspondiendo para las aves de postura comercial una frecuencia de 11.71% y para las de crianza casera de 3.92%.

- La crianza tecnificada de aves ponedoras represento para el año 2001 en los departamentos de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac y Puno, un factor de riesgo, siendo 69.71 veces más probable que se contagie que si fuese una crianza de aves de Riña.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexander, D. 2003. Newcastle disease and other paramyxovirus infections. En: Disease of poultry. 11va edición. p.63 - 87. Iowa state university press. Iowa – USA.
- Alexander, D. 1998. Newcastle disease virus and other avian paramyxovirus. En: Isolation..... 11va edición. p.63 - 87. Iowa state university press. Iowa – USA.
- Alva, B. 2001. Newcastle velogénico siempre un tema de actualidad. En: memorias XXIV reunión científica anual peruana de producción animal, del 10 – 13 septiembre. Lima – Perú.
- American Association of Avian Pathologist (AAAP) 1990. Avian disease manual Fourth Edition USA
- Avellaneda, G 1994. Control de Newcastle en Pollos de Engorde. Avic Profesional. Vol 11 #3
- Baes, J. 1994. Patología de las aves. p. 14 -18. Editorial Trillas. México.
- Baco, J. 1999. Patología de las Aves, Editorial Trillas, México
- Bains B.S. 1979 Amanual of poultry diseases Edition Roche Baste- USA
- Beard, C. 1983. La enfermedad de Newcastle características y medidas de control. En: memorias V seminario internacional de patología aviar, del 28 de agosto al 2 septiembre. Georgia – Estados Unidos.
- Bell, J. Y Mouloudi, S. 1988. A reservoir of virulent Newcastle disease virus in village chickens flocks. Preventive Veterinary Medicine. 6:37 - 42 .

- Blahe, T. 1995. Epidemiología especial veterinaria. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.
- Carión, 2000. Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle en aves silvestres del orden columbiforme en Baños de Boza, distrito de Okayama, provincia de Huaral. Tesis bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Marcos, Lima.
- Chang, E. 1998. Detección de la prevalencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle en aves silvestres paseriformes y columbiformes en la provincia de Chancay. Tesis bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Marcos, Lima
- Chen, J y Wang, Ch. 2002. Clinical epidemiology and experimental evidence for the transmission of Newcastle disease virus through eggs. *Avian Diseases*, 46:461-465.
- Cherdahai, R. 1988. Study of Newcastle disease vaccination one to four times a year in native chickens raised in the village. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 18:3-7.
- Comotto, G.E. 2000. Enfermedades de las aves. p. 106-113. Imprenta Zagazeta S.R.Ltda. Lima –Perú.
- Cortez, S. 1970. Estudio retrospectivo de las principales enfermedades diagnosticadas en el laboratorio de patología aviar durante (1956-1969). Tesis bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Marcos, Lima.
- Dafour-Zavala, L. 1994. Control de la enfermedad de Newcastle en el mundo. En: memorias VIII seminario internacional de patología aviar y producción aviar, del 6 al 10 de junio. Georgia – Estados Unidos.
- Dive, A. 1950. La enfermedad de Newcastle (neumoencefalitis aviar) en Venezuela. *Bol. Inst. Invest. Vet.* 3:547-575.
- Fenner, F. 1992. Virología veterinaria. Ed. Acribia S.A. Zaragoza – España.
- Higgins, D y Shortridge, K. 1988. Newcastle disease in tropical and developing countries. En: Newcastle disease, editor: Alexander, D. p.113-130. Kluwer Academic Publishers. Londres – Inglaterra.
- Inga, E. 1991. Análisis estadístico retrospectivo de las principales enfermedades diagnosticadas en el laboratorio de patología aviar en los últimos diez años. Tesis bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Marcos, Lima.
- King, D. 2002. Enfermedad de Newcastle: situación mundial y control. En: memorias del X seminario internacional de patología y producción aviar, del 27 al 31 de mayo. Georgia - Estados Unidos.
- Martin, P. 1991. The epidemiology of Newcastle disease in village chickens. En: seminario internacional Newcastle disease in village chicken – control with thermostable oral vaccines, del 6 – 10 octubre. Kuala Lumpur – Malasia
- Mayo, M. 2002. Virus taxonomy – Houston 2002. *Archives of virology*. 147: 1071-1076
- Morales M. 1995. Consideraciones sobre el control de la Enfermedad de Newcastle. IV Congreso nacional de avicultura. Arequipa.
- Quintero, D. 1989. Las pruebas de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación en la serología de la enfermedad de Newcastle. *Revista Cubana de Ciencia Avícola*, 16:81-89.

- Philipps, L. Navaes, O. y Fernandes L. 1951. La neumoencefalitis aviar en el Perú. Rev. Inst. Nac. Biol. Animal. 2:31-51.
- Ritchie, B. 1994. Avian Medicine. Principies and aplication. Wingers Publishing inc.
- Rojo M.E. 1991. Enfermedades de las Aves 2da ed. México. Trillas 344p
- Shimabukuro, I. 2000. Determinación de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle en psitácidas en cautiverio en el parque de las leyendas. Tesis bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Marcos, Lima.
- Van den Wijngaard, J. 1996. Parte II: prevención de la enfermedad de Newcastle. Industria Avícola, 43:26 – 29.
- Yu, L. Wang, Z. 2001. Characterization of newly emerging Newcastle disease virus isolates from the people's republic of China and Taiwan. Journal of Clinical Microbiology. 39:3512-3519.

ANEXO

Consultar el capítulo completo en :

http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2005/ravina_np/pdf/ravina_np-TH.back.2.pdf