

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Efectividad de tres programas vacunales contra la
enfermedad de Newcastle usando vacunas entéricas**

TESIS

Para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Luis Alfredo Chávez Balarezo

Lima – Peru

2014

A mi madre, Luz Angélica, porque con su esfuerzo, su confianza, su sudor, sus lágrimas y su inconmensurable amor, me empujó siempre hacia adelante, siendo motor y motivo de mis logros y alegrías.

A mi hermana, Luz Main, porque a su especial manera, siempre me motivó para seguir adelante y lograr aún muchas más cosas, muy aparte de darme a un lindo sobrino.

A mi sobrino, Ian, porque aún sin saberlo, representa un gran motivo para siempre seguir adelante y lograr lo mejor.

A la Dra. Eliana Icochea, directora de la Tesis, por la oportunidad brindada, por su confianza, su enseñanza y su gran aprecio.

A Samantha, por su amor e incondicional apoyo en los buenos y malos momentos.

A José Tang, por su gran amistad, gran aprecio, confianza y consideración para poder llegar a la culminación del presente trabajo.

A mi querida Casa Verde, porque sé que a pesar del tiempo, siempre estaremos unidos por el sentimiento que significó haber pertenecido a este lindo grupo humano.

A mi querida familia, que siempre confía en mí, y siempre me brinda las fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mi Alma Mater, la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siempre le estaré agradecido, porque me ha dado uno de los mejores regalos que podría haber recibido, el conocimiento.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE CUADROS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE ANEXOS	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 AGENTE ETIOLÓGICO.....	3
2.1.1 Clasificación.....	3
2.1.2 Estructura.....	3
2.1.3 Propiedades físicas y biológicas.....	4
2.1.4 Replicación viral.....	4
2.2 CLASIFICACIÓN DE CEPAS.....	5
2.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	6
2.3.1 Hospederos.....	6
2.3.2 Transmisión y difusión.....	7
2.4 SIGNOS CLÍNICOS.....	7
2.5 PATOGENIA.....	8
2.5.1 Lesiones macroscópicas.....	8
2.5.2 Lesiones microscópicas.....	9
2.6 DIAGNÓSTICO.....	10
2.6.1 Aislamiento e identificación del agente causal.....	10
2.6.2 Evaluación de la Patogenicidad.....	10
2.6.3 Serología.....	11

2.7 PREVENCIÓN Y CONTROL.....	11
2.8 VACUNACIÓN.....	11
2.8.1 Vacunas vivas.....	12
2.8.2 Vacunas Inactivadas.....	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 MATERIALES.....	15
3.1.1 Animales.....	15
3.1.2 Alimentación.....	15
3.1.3 Vacunas a evaluar.....	15
3.1.4 Equipos.....	15
3.2 MÉTODOS.....	16
3.2.1 Diseño Experimental y observacional.....	16
3.2.1.1 Diseño Experimental.....	16
3.2.1.2 Desafío viral.....	17
3.2.1.3 Parámetros evaluados.....	17
3.2.2 Análisis de la información.....	19
IV. RESULTADOS.....	20
4.1 EVALUACIÓN DE REACCIONES POST VACUNALES.....	20
4.2 EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN POST DESAFÍO.....	22
4.3 EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS.....	29
V. DISCUSIÓN.....	33
VI. CONCLUSIONES.....	37
VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	38
VIII. APÉNDICE.....	44

RESUMEN

La Enfermedad de Newcastle (ENC) es considerada como uno de los principales problemas para la avicultura industrial en el mundo, porque constituye una traba para el comercio internacional de aves y porque puede ocasionar grandes pérdidas económicas. Estas pérdidas pueden ser reducidas drásticamente aplicando correctas medidas de bioseguridad y adecuados programas de vacunación. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad de tres programas vacunales contra la ENC en pollos de engorde usando vacunas entéricas. Con tal fin se utilizaron 240 pollos BB de la línea Cobb Vantress 500, distribuidos en 4 grupos experimentales. El grupo 1 fue vacunado al primer día con una viva entérica y una inactivada y, revacunado al día 8 con una vacuna viva entérica. El grupo 2 recibió sólo vacunas entéricas los días 1, 8 y 18. El grupo 3, fue vacunado con una vacuna entérica al primero y octavo día de edad. El grupo 4, no recibió ningún tipo de vacunación. El día 28 todas las aves fueron desafiadas vía ocular con un inóculo conteniendo un virus velogénico de la ENC. Se evaluó mortalidad, signos clínicos, parámetros productivos y respuesta serológica medida por la prueba de ELISA a los días 3, 29 y 45 de edad. Se obtuvo una mejora mayor de 7% en la protección contra el virus de Newcastle (vENC) en los grupos que usaron una vacuna entérica con una inactivada, y en el grupo que usó dos revacunaciones, por sobre el grupo que sólo usó una revacunación.

Palabras Clave: Newcastle, virus, vacuna inactivada, vacuna entérica, revacunación

ABSTRACT

Newcastle Disease (ND) is considered one of the main problems for the poultry industry in the world, because it constitutes an obstacle to international trade in birds and because it can cause great economic losses. These losses can be drastically reduced by applying proper biosecurity measures and appropriate vaccination programs. The present study aims to evaluate the effectiveness of three vaccination programs against ND in chickens using enteric vaccines. For this purpose, 240 Cobb Vantress 500 line baby chickens were distributed in 4 experimental groups. Group 1 was vaccinated on the first day with an inactivated vaccine and days 1 and 8, with an enteric vaccine. Group 2 received only enteric vaccines on days 1, 8 and 18. Group 3, vaccinated with an enteric vaccine the first and eighth day. Group 4, did not receive any vaccination. On day 28 all birds were challenged intraocularly with an inoculum containing a velogenic Newcastle Disease virus (NDV). An evaluation of mortality, clinical signs, production parameters and serological response measured by ELISA on days 3, 29 and 45 of age, was done. There was an improvement of over 7% against NDV in those groups using an enteric vaccine with an inactivated one, and in the group using two revaccinations, over the group that only used one revaccination.

Key words: Newcastle, virus, inactivated vaccine, enteric vaccine, revaccination.

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Características de las vacunas vivas y vacunas inactivada.....	14
Cuadro 2	Separación de Grupos.....	16
Cuadro 3	Prueba de X^2 Mortalidad Vs. Grupos.....	23
Cuadro 4	Prueba de X^2 Mortalidad Vs. Grupos Vacunados.....	24
Cuadro 5	Prueba de X^2 Depresión Vs. Grupos.....	24
Cuadro 6	Prueba de X^2 Depresión Vs. Grupos Vacunados.....	24
Cuadro 7	Prueba de X^2 Diarrea Vs. Grupos.....	25
Cuadro 8	Prueba de X^2 Edema Facial Vs. Grupos.....	25
Cuadro 9	Prueba de X^2 Edema Facial Vs. Grupos Vacunados.....	25
Cuadro 10	Prueba de X^2 Secreciones Vs. Grupos.....	26
Cuadro 11	Prueba de X^2 Secreciones Vs. Grupos Vacunados.....	26
Cuadro 12	Prueba de X^2 Ronqueras Vs. Grupos.....	26
Cuadro 13	Prueba de X^2 Ronqueras Vs. Grupos Vacunados.....	27
Cuadro 14	Prueba de X^2 Secuela Nerviosa Vs. Grupos.....	27
Cuadro 15	Promedio de Título de Anticuerpos.....	29
Cuadro 16	Peso corporal promedio (gramos) de grupo experimental según la edad.....	30

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Porcentaje de aves con signos clínicos (estornudos y ronqueras) hasta los 21 días de edad por grupo experimental.....	21
Figura 2	Promedio de intensidad de reacción post-vacunal promedio hasta los 21 días de edad por grupo experimental.....	21
Figura 3	Porcentaje de mortalidad y signos clínicos post-desafío por grupo experimental.....	23
Figura 4	Tiempo de presentación de mortalidad y signos clínicos (Días post desafío) por grupo experimental.....	28
Figura 5	Títulos de anticuerpos (PGT) promedio contra el virus de la enfermedad de Newcastle por grupo experimental a los días 1, 29 y 45.....	28
Figura 6	Peso corporal promedio (gramos) de grupo experimental según la edad.....	29
Figura 7	Consumo acumulado de alimento (gramos) por grupo experimental hasta los 45 días de edad.....	31
Figura 8	Índice de Conversión alimenticia (ICA) por grupo experimental semanal.....	32
Figura 9	Índice de Eficiencia Productiva (I.E.P.) por grupo experimental a los 45 días de edad.....	32

LISTA DE ANEXOS

		Pág.
Cuadro A1	vENC utilizadas como vacunas.....	44
Cuadro A2	Porcentaje de aves con signos clínicos (estornudos y ronqueras) hasta los 21 días de edad por grupo experimental.....	45
Cuadro A3	Grados de evaluación de signos clínicos hasta los 21 días de edad por grupo experimental.....	45
Cuadro A4	Promedio de intensidad de reacción post-vacunal promedio hasta los 21 días de edad por grupo experimental.....	46
Cuadro A5	Porcentaje de mortalidad y signos clínicos post-desafío por grupo experimental.....	47
Cuadro A6	Tiempo de presentación de mortalidad y signos clínicos (Días post desafío) por grupo experimental.....	47
Cuadro A7	Consumo acumulado de alimento (gramos) por grupo experimental hasta los 45 días de edad.....	47
Cuadro A8	Índice de Conversión alimenticia (ICA) por grupo experimental obtenida a los 45 días de edad.....	48
Cuadro A9	Índice de Eficiencia Productiva (I.E.P.) por grupo experimental a los 45 días de edad.....	48
Cuadro A10	Peso corporal de cada ave por grupo experimental al primer día de edad.....	48
Cuadro A11	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la primera semana de edad.....	50

Cuadro A12	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la segunda semana de edad.....	51
Cuadro A13	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la tercera semana de edad.....	53
Cuadro A14	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la cuarta semana de edad.....	54
Cuadro A15	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la quinta semana de edad.....	56
Cuadro A16	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la sexta semana de edad.....	57
Cuadro A17	Peso corporal de cada ave por grupo experimental a los 45 días de edad.....	59
Cuadro A18	Títulos de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle por grupo experimental a los 28 días de edad.....	60
Cuadro A19	Títulos de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle por grupo experimental a los 45 días de edad.....	61
Cuadro A20	Mortalidad diaria Post-desafío por grupo experimental.....	61
Cuadro A21	Animales deprimidos por día Post-desafío por grupo experimental.....	62
Cuadro A22	Animales con casos de diarrea por día Post-desafío por grupo experimental.....	62
Cuadro A23	Animales con casos de edema facial por día Post-desafío por grupo experimental.....	63
Cuadro A24	Animales con casos de ronqueras y estornudos por día Post-desafío por grupo experimental.....	63
Cuadro A25	Animales con secreción por día Post-desafío por grupo experimental.....	64
Cuadro A26	Animales con casos de parálisis por día Post-desafío por grupo experimental.....	64
Cuadro A27	Animales con casos de tics por día Post-desafío por grupo experimental.....	65

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Newcastle (ENC) es una enfermedad de importancia en pollos y otras especies aviarias a nivel mundial, la naturaleza y magnitud de la enfermedad varía entre países (King, 1999); sin embargo continúa siendo una de las principales entidades patológicas que afecta la industria avícola del mundo y aunque aparenta estar controlada en la mayoría de países, frecuentemente se presentan brotes que causan serias pérdidas económicas (Villegas et al, 1995). Fue en 1926 que Kraneveld observó la presentación de la enfermedad en la isla de Java en Indonesia, en 1927 Doyle la reportó en la ciudad de Newcastle en Inglaterra, siendo el cuadro clínico de las aves en aquella época, el mismo que en la actualidad (Quintero, 1989). Dove la reportó por primera vez en América del Sur en Venezuela en 1950; y un año más tarde Philipps la diagnostica en el Perú.

La ENC pertenece a la lista única de la Organización Mundial para la Sanidad Animal (OIE) (antes llamada Oficina Internacional de Epizootias) (anteriormente, junto a la Influenza Aviar, eran las únicas dos enfermedades aviarias pertenecientes a la Lista A) (OIE, 2012) y es de notificación obligatoria a las autoridades sanitarias del Perú (SENASA, 2012). El último reporte de ENC del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) fue en Febrero del 2003 (Resolución Directoral N°63-2003-AG-SENASA LIMA-CALLAO) en el departamento de Lima y en el departamento de Moquegua en Septiembre del 2002 (Resolución Directoral N°051-2002-AG-SENASA-MOQUEGUA). Se hace evidente que la ENC está presente en nuestro país, por lo que se hace necesaria la identificación de los reservorios de esta enfermedad, siendo los mayores sospechosos las aves silvestres (Carrión, 2000;

Shimabukuro, 2000; Chang, 1998), aves de riña y las aves de crianza casera (Ferrer, 2005; Ravina, 2005), las cuales jugarían un rol importante en la diseminación de la enfermedad, favoreciendo la aparición de brotes.

Más de 80 años de estudios sobre esta enfermedad han dado una perspectiva real sobre la emergencia y virulencia de los virus y el conocimiento sobre cómo controlar la enfermedad basándose en la bioseguridad en donde la introducción de la misma es poco probable y en la vacunación, en donde la enfermedad es endémica, sin embargo, siguen ocurriendo brotes bastantes diseminados en Europa, como los de Gran Bretaña en 1997, Italia en 2000 y Dinamarca en 2002; y en muchos países en vías de desarrollo, la enfermedad sigue siendo endémica y representa una barrera para el desarrollo de industrias avícolas comerciales y continúa devastando las poblaciones de traspatio o de aldeas (Brown et al, 2003)

Es por esto que la prevención contra la ENC debe ser una prioridad en las granjas comerciales y aves de crianza de traspatio; siendo uno de los pilares esenciales en la prevención la vacunación. Para prevenir la enfermedad se cuenta con vacunas comerciales vivas e inactivadas. Las vacunas vivas son producidas a partir de cepas lentogénicas como la cepa La sota, pero debido a su tropismo respiratorio agresivo, causan en pollos de engorde una reacción post-vacunal indeseable para la genética de conformación actual, por ello durante los últimos años fueron desarrolladas vacunas en base a cepas apatógenas con tropismo entérico. Es por esto que se plantea la necesidad de evaluar si los programas vacunales usando vacunas vivas entéricas protegen igualmente que un programa reforzado con vacuna inactivada. Por tal motivo el presente trabajo tuvo como objetivo comparar la protección inducida por tres esquemas de vacunación usando una vacuna entérica aplicada sola con una o dos revacunaciones o, reforzada con una vacuna inactivada.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO

2.1.1 Clasificación

La enfermedad de Newcastle (ENC) pertenece al orden de los *Mononegavirales*, familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Paramyxovirinae*, género *Avulavirus*, antiguamente clasificado como *Rubulavirus* (Mayo, 2002). Nueve serogrupos del paramyxovirus aviar son reconocidos: del AMPV-1 al AMPV-9, siendo el virus de la Enfermedad de Newcastle (vENC) el AMPV-1. Las cepas del virus de la ENC muestran patogenicidad variable, pero no existen diferencias antigénicas entre ellas (Alexander, 2003; Rojo, 1991)

2.1.2 Estructura

Las partículas virales del vENC son bastante pleomórficas, siendo por lo general redondeadas y de 100 a 500 nm. de diámetro; sin embargo se han descrito formas filamentosas de 100 nm. de ancho y longitudes variables (Jordan, 1990).

El genoma viral está compuesto de una sola cadena ARN, la cual tiene sentido negativo y está compuesta por 15186 nucleótidos. Estos codifican 6 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 glóbulos rojos y así neutralizan la capacidad infectiva del vENC; es decir, los anticuerpos protectivos son inducidos por esta proteína. (Alexander, 2003)

Actividad de la Neuraminidasa: La Neuraminidasa, que también forma parte de la HN, es una enzima que se encarga de eludir gradualmente los eritrocitos aglutinados. La función exacta de la Neuraminidasa en la replicación viral es desconocida, pero es probable que la Neuraminidasa remueva receptores virales de la célula huésped, previniendo la adhesión de las partículas virales liberadas y el agrupamiento viral (Alexander, 2003).

Fusión Celular: Esta propiedad se da por la presencia de la proteína F, responsable de la fusión de la membrana del virus con la membrana de la célula huésped durante el ciclo de replicación, luego que se da la adhesión del virus, y es responsable del pase del virus de una célula a otra sin tener que salir al medio extracelular, también es responsable de la patogenicidad del virus. La respuesta inmune dirigida contra esta glicoproteína puede prevenir la diseminación del virus de una célula a otra, mas no neutralizan efectivamente al virus, por lo que no son protectivos. (Alexander, 2003)

2.1.4 Replicación viral

El virus de la enfermedad de Newcastle usa una estrategia de replicación de sentido negativo. Primero, el virus se une con la célula receptora a través del polipéptido HN, la fusión de las membranas del virus y de la célula se da gracias a la proteína F, la cual permite al complejo nucleocápside entrar en la célula, y resulta en el efecto citopático característico de formación sincitial (Jordan, 1990; Alexander, 2003).

La replicación se da por completo en el citoplasma, debido al sentido negativo que tiene el ARN viral. La ARN polimerasa es dirigida por el ARN viral y produce transcriptasas complementarias de sentido positivo para que actúen como ARN mensajero (ARNm) y así usen los mecanismos celulares normales, habilitando la traducción a proteínas y genomas virales. La Proteína F es sintetizada como un precursor no funcional (F0), que requiere ser cortada en dos partes (F1 y F2) por medio de proteasas de la célula huésped. Además la HN de algunas cepas podría requerir división post-traducción (Alexander, 2003; Mora, 2005).

Una vez que las proteínas han sido sintetizadas dentro de la célula infectada, estas son transportadas a la membrana celular. Sigue el alineamiento de la nucleocápside en las cercanías de las regiones modificadas de la pared celular, las partículas virales son eliminadas por gemación de la superficie celular, y el envolvimiento del virus se da gracias a la membrana lipo-proteica de la célula infectada (Mora, 2005)

2.2 CLASIFICACIÓN DE CEPAS

Todas las cepas pertenecen a un mismo serotipo, pero se clasifican de acuerdo a la patogenicidad de las mismas; es así que se denominan de la siguiente manera:

Cepas Lentogénicas: Cepas de baja patogenicidad, generalmente usadas como cepas vacunales; como por ejemplo se puede mencionar la cepa B-1 o La Sota. Producen una leve enfermedad respiratoria, la cual corresponde a la reacción post vacunal característica (Alexander, 2003; Ravina, 2005). En gallinas ponedoras pueden ocasionar bajas en la producción de huevos, así como cáscaras rugosas o deformadas (Ravina, 2005)

Cepas Mesogénicas: Son cepas de moderada patogenicidad, que causan signos respiratorios y nerviosos agudos, pero no ocasionan mortalidad en aves adultas, como la cepa Roakin. (Villegas, 1995; Ravina, 2005).

Cepas Velogénicas: Son cepas altamente patógenas que causan alta mortalidad en aves de cualquier edad, y se subclasifican en:

- Viscerotrópicas: Producen la forma más severa y aguda de la enfermedad, pudiendo observarse episodios de diarrea y muerte. Entre estas cepas tenemos las cepas Milano, Herts y GB (Morales, 1995; Ravina, 2005).
- Neurotrópicas: Producen alta mortalidad, en una forma donde predominan los signos nerviosos como opistótonos y parálisis. Entre estas cepas tenemos a la Texas GB (Alexander, 2003; Ravina, 2005).

Cepas Asintomáticas: Estas cepas no producen signos clínicos, ni ningún tipo de enfermedad. Entre estas cepas tenemos las cepas Ulster 2C, V4 y VG/Georgia (Alexander, 2003; Ravina, 2005).

2.3 EPIDEMIOLOGÍA

2.3.1 Hospederos

El vENC es capaz de infectar a todas las especies de aves domésticas, aunque algunas especies, como los patos y los gansos, tienden a mostrar menos signos de la enfermedad (Jordan, 1990; Mora, 2005), aunque existen diversas opiniones respecto a la susceptibilidad entre aves de traspatio y de líneas comerciales. Algunos señalan que las aves de crianza de traspatio son más resistentes que las líneas comerciales (Cherdahai, 1988), mientras que otros afirman que no existen evidencias suficientes para demostrar una diferencia entre el grado de susceptibilidad entre ambos grupos (Higgins y Shrotridge, 1988; Ferrer, 2005).

Además de las especies aviares domésticas, se ha logrado demostrar la infección, tanto natural como experimental, con el vENC en al menos 250 especies (Carter, 2005) de 27 de los 50 órdenes de aves (Brown *et al*, 2003).

2.3.2 Transmisión y difusión

La ENC es altamente contagiosa (Carter *et al*, 2005), y la infección se puede da tanto por inhalación o ingestión del virus, y la diseminación de un ave a otra depende de la cantidad de formas infecciosas disponibles (Alexander, 2003).

Las principales vías de eliminación del virus son la materia fecal y los aerosoles en el aire expirado (Morales, 1995). Se menciona que el virus puede penetrar la cáscara del huevo después de la postura (Chen y Wang, 2002), sin embargo el tema de la transmisión vertical aún sigue siendo un tema controversial (Alexander, 2003). Se menciona que el virus es excretado antes que empiecen los signos clínicos de la enfermedad, también puede ocurrir en aves que se han recuperado de la infección clínica; e incluso algunas aves vacunadas no muestran los signos clínicos de un desafío viral, pero si excretan el virus (Fenner, 1992).

La forma de transmisión más común es la introducción de aves infectadas en el plantel genético o en galpones susceptibles, la importación de mascotas u otras aves infectadas, movimiento de alimento y de productos avícolas (Alexander, 2003), las canales de aves infectadas, vectores mecánicos (humanos, equipos) y la diseminación entre galpones por vía aerógena (Bains, 1979).

La diseminación de la ENC es más veloz en granjas donde la crianza es tecnificada, que en crianzas no tecnificadas, donde el vENC puede tardar semanas en saltar de una granja a otra, o de un lote a otro, y meses en expandirse en un plano local. En ambos sistemas de producción, la epidemiología es diferente; la ocurrencia de la enfermedad depende de la combinación de factores, como pueden ser la edad, la exposición previa al virus, condiciones de manejo y otros; es así que la presencia de una cepa patogénica es un factor necesario, pero no suficiente (Martin, 1991).

2.4 SIGNOS CLÍNICOS

Podemos agrupar los patotipos basándonos en los signos clínicos que son expresados por las cepas del virus, pero debemos tener en cuenta otros factores como son la especie

del hospedero, su estado inmune, otras infecciones coexistentes, edad, estrés, vía de exposición y la dosis viral (Alexander, 2003). Así tenemos 5 formas o patotipos:

Doyle: Afecta el sistema digestivo, respiratorio y nervioso y es denominado también como ENC velogénica viscerotrópica (Baes, 1994; Alexander, 2003).

Beach: Afecta el sistema respiratorio y nervioso, también conocido como ENC velogénica neurotrópica. La mortalidad puede alcanzar el 100% en lotes de aves susceptibles (Baes, 1994; Morales, 1995; Alexander, 2003).

Beaudette: Es originada por el virus mesogénico, el cual puede ser usado como vacunas atenuadas secundarias (Baes, 1994).

Hitchner: Suaves o inaparentes infecciones respiratorias causadas por virus lentogénicos que son usados comúnmente como vacunas atenuadas (Baes, 1994).

Asintomática entérica: Causa una infección inaparente y es principalmente una infección intestinal con virus lentogénico (Baes, 1994)

2.5 PATOGENIA

Inicialmente, el virus se replica en el epitelio de la mucosa de los tractos respiratorios y digestivos, para luego difundirse por vía hemática al bazo y médula ósea, produciendo la viremia secundaria y llegando a otros órganos blancos como el pulmón, los intestinos y el sistema nervioso central (Fenner, 1992).

2.5.1 Lesiones macroscópicas

En el sistema nervioso central de las aves infectadas con el virus, no se observan cambios significativos, sin importar el tipo de cepa. No siempre existe la presencia de cambios patológicos en el tracto respiratorio, pero generalmente se observa hemorragia y una marcada congestión de la mucosa traqueal. Con frecuencia se observa, también, aerosaculitis, engrosamiento de los sacos aéreos con exudado catarral o caseoso, asociados a infecciones bacterianas secundarias, incluso cuando las cepas son de moderada virulencia. En gallinas de postura infectadas con el vENC se puede presentar

una postura interna, manifestada por la presencia de yema de huevo dentro de la cavidad abdominal, ovarios flácidos o hemorrágicos con ruptura de folículos y puede verse degeneración, hemorragias y decoloración de los otros órganos sexuales (Ritchie, 1994; Alexander, 2003).

Muchos de estos signos corresponden a enfermedades como influenza aviar, bronquitis infecciosa, coriza infecciosa, micoplasmosis, laringotraqueitis infecciosa entre otras que causan principalmente síntomas respiratorios y digestivos, por lo tanto, signos clínicos aislados no representan una base confiable para el diagnóstico (Baes, 1994; Ritchie, 1994)

2.5.2 Lesiones microscópicas

Generalmente se observa encefalomiелitis no supurativa con degeneración neuronal, infiltración perivascular de linfocitos e hipertrofia de las células endoteliales, y comúnmente se localizan en el cerebelo y médula, con raros casos en cerebro (Alexander, 2003; Mora, 2005).

En el sistema circulatorio se puede observar alteraciones vasculares como congestión, edema y hemorragia, presente en los vasos sanguíneos de diversos órganos. También se describe hialinización de las arteriolas y capilares que conllevan a cuadros de trombosis y necrosis endotelial en pequeños vasos sanguíneos (Alexander, 2003; Mora, 2005).

En el tracto intestinal se observa hemorragias y necrosis de la mucosa y agregados linfoides que aparecen con algunas cepas virulentas. En el tracto respiratorio los cilios traqueales están ausentes después de dos días de infección con algunas cepas; y en el tracto respiratorio superior se observa edema, congestión e infiltración linfocitaria densa (Alexander, 2003; Mora, 2005).

2.6 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico en campo se basa netamente en la observación de las lesiones macroscópicas a la necropsia; sin embargo, estas más que dar un diagnóstico definitivo, nos indican las sospechas que se deben tener. Para un diagnóstico definitivo siempre se emplean las técnicas de laboratorio.

2.6.1 Aislamiento e identificación del agente causal

Es el método más certero para el diagnóstico del vENC. Este se realiza en huevos embrionados libres de patógenos específicos (LPE o SPF, por sus siglas en inglés “Specific Pathogen Free”) de 9 a 10 días o en cultivos celular (Alexander, 2003). La identificación del agente viral se puede realizar por técnicas inmunohistológicas, siendo esta un método rápido para la demostración del agente o sus antígenos en las muestras usadas. La inmunofluorescencia también puede ser usada en pequeñas partes de tráquea (Rojo, 1991; Alexander, 2003).

Entre las técnicas moleculares debemos mencionar a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en el que en este caso debe iniciarse con el uso de la transcriptasa reversa (RT) debido al genoma ARN de vENC, de allí que se le llame RT-PCR (Hung et al, 2004).

2.6.2 Evaluación de la patogenicidad

Dado el amplio uso de las cepas lentogénicas como vacunas, se hace necesario evaluar la patogenicidad de los virus de campo. Esto se puede realizar a través de pruebas *in vivo* tomando como determinante el tiempo de muerte de huevos embrionados LPE de 9 a 10 días, el índice de patogenicidad intracerebral (IPIC) de pollitos LPE de 1 día o el índice de patogenicidad intravenoso de pollos LPE de 6 semanas. Las pruebas *in vitro* incluyen la formación de placas en cultivos celulares en ausencia de tripsina, el uso de paneles de anticuerpos monoclonales y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Alexander, 2003).

2.6.3 Serología

Las pruebas serológicas más usadas son la prueba de la inhibición de la hemoaglutinación (HI) y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), habiéndose demostrado una buena correlación entre ambas (Alexander, 2003), a pesar de que estas pruebas detectan diferentes tipos de anticuerpos. El ELISA detecta inmunoglobulinas G, mientras que la HI detecta inmunoglobulinas M. La HI tiene una muy buena sensibilidad para respuestas inmunes inducidas por cepas de campo, mientras que el ELISA tiene mayor sensibilidad a respuestas inmunes inducidas por cepas vacunales (Silva, 1997).

2.7 PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención y control de la enfermedad de la ENC se logra con una correcta implementación de medidas adecuadas que permitan identificar y eliminar reservorios además de controlar las posibles fuentes de difusión (Alva, 2001). Esto se realiza mediante restricciones en la importación de aves vivas y productos avícolas, la erradicación de la forma velogénica de la ENC con programas que incluyan la eliminación de parvadas que hayan sufrido brotes de la enfermedad, prácticas correctas de bioseguridad y de la implementación de programas de vacunación con virus activo e inactivo, estando estos tres en un balance total, pues la falta de una de estas medidas no logrará la resolución de los problemas causados por la ENC (Dafour-Zavala, 1994), método que se viene usando desde 1940 para reducir las pérdidas provocadas por esta enfermedad (Beard, 1983).

2.8 VACUNACIÓN

El vENC es antigénicamente estable, o al menos de modo relativo, por lo que se convierte en un excelente agente para la producción de vacunas. Su estabilidad antigénica provoca que las vacunas producidas sean bastante eficaces para la inmunización de plantales, control de brotes y la posible erradicación de la enfermedad (Martins, 2003).

La vacuna contra el vENC debería resultar en la inmunización contra la infección y replicación del virus; sin embargo, en algunos casos sólo protege al ave contra los signos más graves, pero permite la replicación y eliminación del virus, aunque a niveles reducidos (Alexander, 2003).

2.8.1 Vacunas vivas

Generalmente se hace la separación entre lentogénicas y mesogénicas, pues estas últimas pueden producir por sí solas la ENC; sin embargo, pueden ser de gran utilidad en zonas endémicas debido a su capacidad para producir una alta respuesta inmune secundaria. Las vacunas mesogénicas poseen dos pares de aminoácidos en el lugar de división F0 y su IPIC está alrededor de 1.4 (OIE, 2012). La respuesta inmune será mejor, cuando la vacuna viva sea más patógena, por lo que para obtener una protección óptima, se deben usar virus cada vez más patógenos, pero que no lleguen a producir la enfermedad, o en todo caso usar vacunas inactivadas, seguidas por vacunas vivas (Alexander, 2003)

Las cepas lentogénicas más usadas son La Sota y B1, pues se replican en el aparato respiratorio y generan una respuesta inmune local y humoral. La Sota es una cepa más invasora, por lo que tiene más probabilidad de producir la enfermedad, a pesar de inducir una rápida inmunidad, no se recomienda como primera vacuna, pero si como revacunación para aves vacunadas previamente con la cepa B1. La cepa B1 es considerada poco agresiva e induce una inmunidad más lenta y menor (Villegas *et al*, 1995). También se han usado las cepas lentogénicas V4, F, Ulster 2C, NDW, I2 o VG-GA (Jordan, 1990; King, 1999; OIE, 2012).

La cepa VG-GA se replica tanto en el aparato respiratorio como en el intestino, y produce una respuesta inmune comparable con la cepa B1. Estas cepas pueden llegar a producir una protección comparable a la de cepas agresivas con la característica especial que no producen reacciones vacunales tan marcadas (Villegas *et al*, 1995).

Se ha comprobado que la vacunación temprana al primer día de edad de pollos saludables es efectiva, pero su efectividad aumenta cuando la vacunación se posterga

hasta la segunda o tercera semana de edad (OIE, 2002). Cabe mencionar que la inmunidad lograda con vacunas vivas es muy corta, por lo que generalmente se requieren revacunaciones cada 15 o 20 días (Mora, 2005). En el Cuadro A1, se pueden apreciar los vENC más comunes usados en vacunas comerciales (Alexander, 2003).

2.8.2 Vacunas Inactivadas

Las vacunas inactivadas son producidas a partir de fluido alantoideo infeccioso tratado con β -propiolactona o formalina para matar al virus y luego ser mezclado con un adyuvante, el cual en su mayoría, actualmente, es aceite mineral (Alexander, 2003). La inmunogenicidad de estas vacunas puede variar de manera considerable, con el tipo y la relación de los componentes de la vacuna (Jordan, 1990).

Los virus avícolas logran títulos muy altos, por lo tanto, parecería innecesario arriesgarse a usar un virus virulento en la preparación de vacunas para pollos (Alexander, 2003; OIE, 2012); sin embargo, dado que el virus no se multiplica luego de la vacunación, se requieren de dosis mucho mayores de antígenos comparado al uso de vacunas vivas, para lograr la inmunización adecuada (OIE, 2012).

Las vacunas inactivadas pueden producir una inmunidad humoral elevada, uniforme y persistente en el tiempo (Antillon, 2005). Las vacunas inactivadas deben ser administradas por inyección, tanto intramuscular o subcutánea (Alexander, 2003), pues cada ave recibe una dosis estándar (OIE, 2012). La recomendación general es que los virus inactivados y emulsionados sean aplicados por vía subcutánea, y la vía intramuscular sólo debe usarse en aves destinadas a un fin diferente al engorde (Antillon, 2005).

En el cuadro 1, se resumen las características de las vacunas vivas e inactivadas.

Cuadro 1. Características de las vacunas vivas y vacunas inactivadas

Característica	Vacunas Vivas	Vacunas Inactivadas
Almacenamiento	Polvo seco congelado, por lo que se debe almacenar cuidadosamente.	Fácil almacenamiento
Costos	Baratas y de fácil aplicación.	Producción y aplicación costosas.
Efecto protectorio	Inmunidad local estimulada, rápida protección, pero de corta duración.	Produce una muy efectiva y larga protección.
Diseminación viral	Virus vacunales se pueden diseminar a otras aves, lo que puede generar una mayor uniformidad, pero puede afectar a aves susceptibles no vacunadas.	No existe diseminación viral.
Reacciones post-vacunales	La vacuna puede ocasionar la enfermedad.	No producen la enfermedad y tienen pocas reacciones post-vacunales.
Revacunaciones	Su uso requiere de múltiples aplicaciones de vacunas.	No necesariamente se debe revacunar, pero si se usa la revacunación.
Posibles interferencias	Interferencia con inmunidad maternal.	Vacunas oleosas inactivadas no se ven afectadas por inmunidad maternal.
Inactivación	Fácilmente inactivadas.	Pueden ser usadas en condiciones donde las vacunas vivas no.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Animales

Se utilizaron 240 pollos de engorde machos de 1 día de edad de la línea Cobb Vantress 500.

3.1.2 Alimentación

Se usó un alimento conteniendo una fórmula convencional para pollos de carne, el que fue administrado ad libitum.

3.1.3 Vacuna a evaluar

Vacunas contra la ENC: Vacuna entérica VG-GA y vacuna inactivada.

3.1.4 Equipos

Crianza: Se usaron comederos tipo tolva, bebederos tipo “tonguito”, mallas divisoras, arpilleras, cerco de nordex, termómetros de máxima y mínima, una balanza electrónica con exactitud de 5 gramos, guantes, cámara digital.

Estudio clínico: Tubos de ensayo, centrifugador, placa para ELISA, lector para ELISA.

3.2 MÉTODOS

Las aves fueron distribuidas en 4 grupos de 60 animales cada uno. Se les proporcionó agua y alimento ad libitum, el cual consistió en una fórmula comercial especialmente diseñada para la etapa de producción en la que se encuentren. Las aves fueron inmunizadas de acuerdo al diseño experimental. Las reacciones post vacunales, signos clínicos y mortalidad fueron evaluados todos los días; los parámetros productivos, semanalmente. A los días 3, 29 y 45 de edad se colectaron muestras de sangre para la evaluación de la respuesta serológica de anticuerpos contra el vENC por la prueba de ELISA. Todos estos datos fueron procesados mediante el análisis estadístico más conveniente para cada variable.

3.2.1 Diseño experimental y observacional

3.2.1.1 Diseño Experimental

Las aves fueron distribuidas en 4 grupos experimentales de 60 animales (machos) cada uno, en ambientes separados con estricto aislamiento, de acuerdo al siguiente diseño experimental:

Cuadro2. Separación de Grupos

Grupo	1° día	8°-9° día	18° día
I	ENC inactivada + VG-GA	VG-GA	-
II	VG-GA	VG-GA	VG-GA
III	VG-GA	VG-GA	-
IV	Control sin vacuna	-	-

3.2.1.2 Desafío viral

A los 28 días de edad todas las aves fueron desafiadas con 60 μ l de un inóculo conteniendo un virus patógeno de ENC aislado de un brote con un título de 10^7 DIE₅₀. El desafío se realizó vía ocular.

3.2.1.3 Parámetros evaluados

Reacciones post vacunales: Las reacciones post vacunales se evaluaron en todos los grupos experimentales en forma diaria hasta los 21 días de edad; registrándose los siguientes signos clínicos: estornudos y ronquera, boqueo, apetito disminuido y mortalidad. Se registró el porcentaje e intensidad de los signos clínicos de acuerdo a la siguiente escala de valores:

- Evaluación de signos clínicos:

Grado 0: 0%

Grado 1: hasta 25% de aves

Grado 2: entre 25 y 50% de aves

Grado 3: entre 50 y 75% de aves

Grado 4: entre 75 y 100% de aves

- Intensidad de signos clínicos:

Grado 0: Aves normales

Grado 1: Reacción ligera

Grado 2: Reacción moderada

Grado 3: Reacción severa

Signos clínicos y mortalidad post desafío: Se evaluaron de forma diaria la mortalidad, lesiones y signos clínicos de las aves desafiadas durante los siguientes 15 días post reto. La evaluación de los signos clínicos tomó en cuenta cuadros de depresión, diarrea, signos respiratorios y signos nerviosos.

Respuesta serológica: Se tomaron muestras de sangre de 15 aves por grupo al tercer día de edad, 29 y 45 días de edad (15 días post desafío); para evaluar el nivel de los anticuerpos con el virus de ENC por las pruebas de ELISA.

Parámetros productivos (semanal):

- Peso corporal promedio: se pesaron el 100% de las aves de cada grupo experimental desde el primer día y luego hasta el final del estudio.
- Consumo de alimento: se registró por semana el consumo y acumulado de cada grupo hasta el final del experimento.
- El índice de conversión alimenticia (ICA) fue evaluado semanalmente.
- Índice de Eficiencia productiva (IEP) se evaluó el rendimiento productivo integral de cada grupo experimental al término del estudio.

Mortalidad y descarte: se registró hasta el término del estudio.

3.2.2 Análisis de la información

Para la evaluación de asociación entre los signos clínicos post-desafío y los grupos, se utilizó la prueba de Chi cuadrado (X^2).

Para determinar si existió alguna variación entre el título de anticuerpos, según los grupos de tratamiento, se realizó una prueba de Kruskal Wallis, y para determinar si existió una diferencia estadística entre los grupos vacunados se procedió a usar la rutina “Kwallis2”.

Para determinar si los pesos siguieron o no una distribución normal se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. Se usó el análisis de varianza de múltiples vías para el análisis estadístico de los pesos obtenidos, cuando los pesos siguieron una distribución normal. Cuando los pesos siguieron una distribución no normal, se procedió a realizar la prueba de Kruskal Wallis, y para determinar si existió diferencia entre los grupos de tratamiento se procedió a usar la rutina “Kwallis2”.

IV. RESULTADOS

Se analizaron las muestras de 240 aves para las variables reacciones post vacunales: signos clínicos e intensidad de los signos clínicos, así como mortalidad, signos clínicos y lesiones macroscópicas post-desafío, también fueron evaluados parámetros productivos y respuesta serológica. Se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1 EVALUACIÓN DE REACCIONES POST VACUNALES:

Posterior a la vacunación se observaron reacciones respiratorias de grado muy leve, las mismas que se caracterizaron por estornudos y ronquera. El grupo IV (control no vacunado) no presentó reacciones post-vacunales. La figura 1 muestra los porcentajes de aves con reacción post vacunal. El grupo I, obtuvo los menores porcentajes de aves con reacciones post vacunales, de entre los 3 grupos tratados. El grupo II y III presentaron los mayores porcentajes de aves con ronquera, con valores de 65% de aves al día 10 y 60% de aves al día 9, respectivamente.

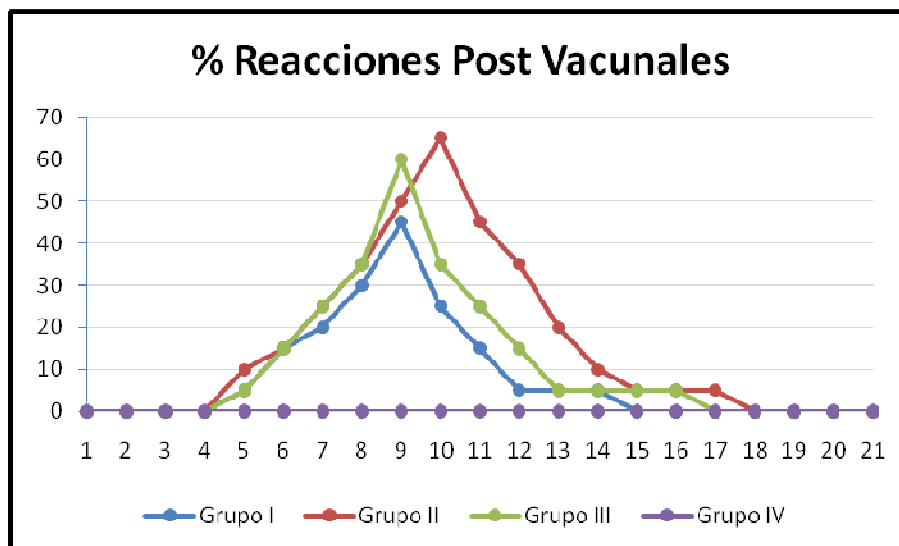


Figura 1. Porcentaje de aves con signos clínicos (estornudos y ronqueras) hasta los 21 días de edad por grupo experimental.

El mayor promedio de intensidad de estornudos y ronqueras se observaron durante los primeros 10 días de edad en los grupos vacunados I y II; sin embargo estos valores no se alejaron de una calificación de reacción leve. (Figura2).

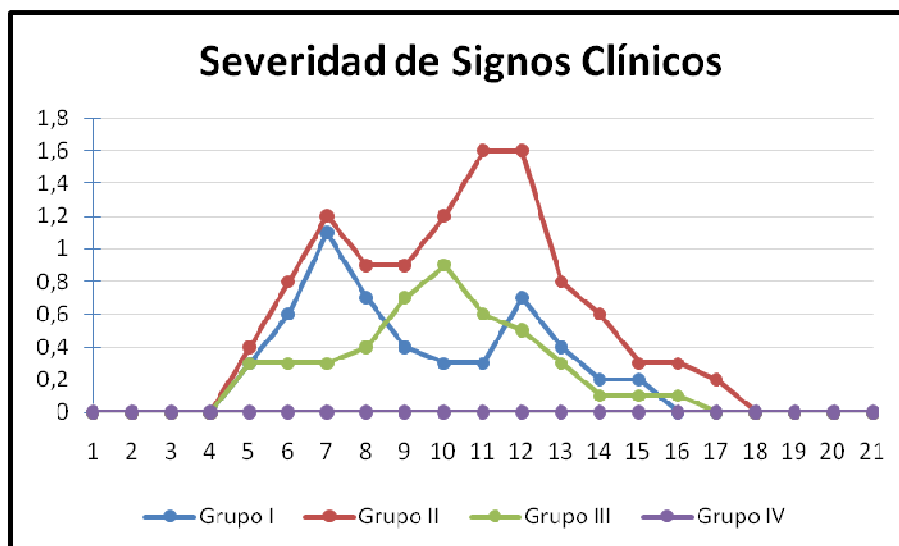


Figura2. Promedio de intensidad de reacción post-vacunal promedio hasta los 21 días de edad por grupo experimental.

4.2 EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN POST DESAFIO

Los signos clínicos observados post desafío se caracterizaron por depresión, diarrea y signos respiratorios (Figura3). En el grupo control no vacunado se observó una mortalidad del plantel completo (100 %) en comparación a los grupos vacunados donde la mortalidad fue no mayor al 30 %.

El grupo II presentó los menores porcentajes de aves deprimidas (29.4%), en comparación con los grupos vacunales I y III con valores superiores al 34% para cuadros de depresión (Figura3).

El grupo I presentó los mayores porcentajes de aves con diarreas (55.8%) en comparación con los grupos vacunales II y III con valores inferiores a 46% (Figura3).

El grupo II presentó los menores porcentajes de aves con edema fácil (10.9%) en comparación con los grupos I y III, los cuales tuvieron valores superiores a 20% (Figura3).

El grupo III presentó los menores porcentajes de aves con secreciones (10.7%) en comparación con los grupos I y II, los cuales tuvieron porcentajes mayores a 14% (Figura3).

El grupo I presentó los mayores porcentajes de aves con ronquera (21.4%) en comparación con los grupos II y III, los cuales presentaron porcentajes menores a 15% (Figura3).

No se observaron diferencias significativas entre la presentación de signos nerviosos entre los grupos vacunados, no superando en ninguno de los casos el 20% de aves afectadas (Figura3).

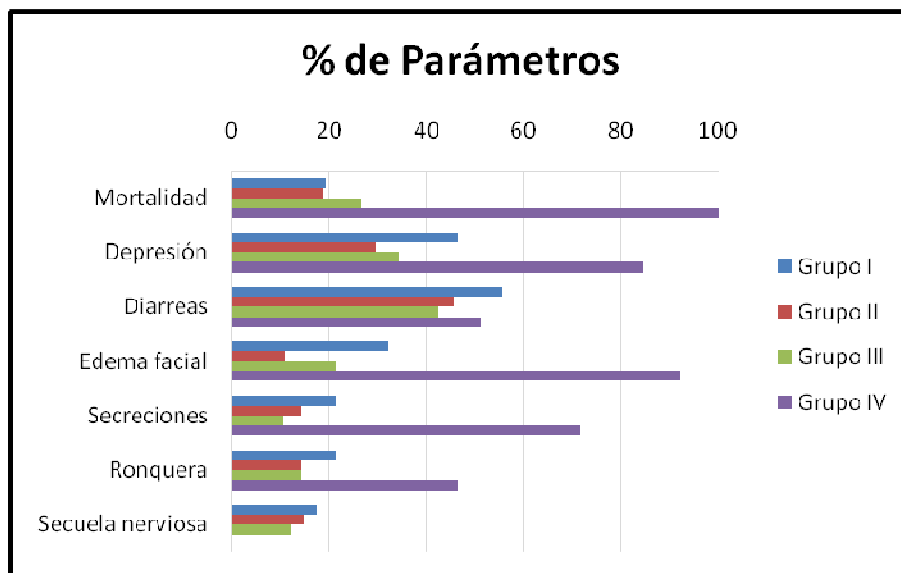


Figura 3. Porcentaje de mortalidad y signos clínicos post-desafío por grupo experimental.

Se realizó una prueba de Chi cuadrado (X^2) para determinar si existe asociación entre el cronograma de vacunación utilizado, y los signos clínicos post-desafío en los animales. Para el caso de mortalidad se encontró que existió una diferencia estadística entre los grupos vacunados (Grupo I, Grupo II, Grupo III) y el grupo control (Grupo IV) ($p < 0.05$) (Cuadro3), más no se encontró diferencia entre los tres grupos vacunados (Cuadro4).

Cuadro3. Prueba de X^2 Mortalidad Vs. Grupos

Grupo	Mortalidad		Total
	Sobrevivientes	Muertos	
I	46	11	57
II	47	11	58
III	41	15	56
IV	0	56	56
TOTAL	134	93	227

$$X^2=0.000$$

Cuadro4. Prueba de X^2 Mortalidad Vs. Grupos Vacunados

Grupo	Mortalidad		Total
	Sobrevivientes	Muertos	
I	46	11	57
II	47	11	58
III	41	15	56
TOTAL	134	37	171

$X^2=0.521$

Al realizar la prueba de X^2 para los cuadros de depresión se encontró diferencia estadística entre los grupos vacunados y el grupo control ($p<0.05$) (Cuadro5), mas no se encontró diferencia estadística entre los tres grupos vacunados (Cuadro6).

Cuadro5. Prueba de X^2 Depresión Vs. Grupos

Grupo	Depresión		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	31	26	57
II	41	17	58
III	37	19	56
IV	9	47	56
TOTAL	118	109	227

$X^2=0.000$

Cuadro6. Prueba de X^2 Depresión Vs. Grupos Vacunados

Grupo	Depresión		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	31	26	57
II	41	17	58
III	37	19	56
TOTAL	109	62	171

$X^2=0.174$

Se realizó también una prueba de X^2 para determinar si existió asociación entre la presencia de diarrea según los grupos, sin embargo, no se halló diferencia estadística entre ninguno de los grupos (Cuadro7).

Cuadro7. Prueba de X^2 Diarrea Vs. Grupos

Grupo	Diarrea		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	25	32	57
II	32	26	58
III	32	24	56
IV	28	28	56
TOTAL	117	110	227

$$X^2=0.492$$

Se encontró diferencia estadística entre los grupos vacunados y el grupo control ($p<0.05$) (Cuadro8), así como también se encontró diferencia estadística entre los grupo vacunados ($p<0.05$) con una tendencia del Grupo II a tener menos animales enfermos (Cuadro9).

Cuadro8. Prueba de X^2 Edema Facial Vs. Grupos

Grupo	Edema Facial		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	39	18	57
II	52	6	58
III	44	12	56
IV	4	52	56
TOTAL	139	88	227

$$X^2=0.000$$

Cuadro9. Prueba de X^2 Edema Facial Vs. Grupos Vacunados

Grupo	Edema Facial		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	39	18	57
II	52	6	58
III	44	12	56
TOTAL	135	36	171

$$X^2=0.020$$

Se realizó también una prueba de Chi cuadrado para determinar si existía relación entre la presencia de secreciones y ronqueras con los grupos; y para todos los signos clínicos post-desafío mencionados se encontró que hubo diferencia estadística entre los grupos vacunados y el grupo control ($p < 0.05$) (Cuadro10 y Cuadro12), mas no hubo diferencia estadística entre los grupos vacunados (Cuadro11 y Cuadro13)

Cuadro10. Prueba de X^2 Secreciones Vs. Grupos

Grupo	Secreciones		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	45	12	57
II	50	8	58
III	50	6	56
IV	16	40	56
TOTAL	161	66	227

$$X^2=0.000$$

Cuadro11. Prueba de X^2 Secreciones Vs. Grupos Vacunados

Grupo	Secreciones		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	45	12	57
II	50	8	58
III	50	6	56
TOTAL	145	26	171

$$X^2=0.290$$

Cuadro12. Prueba de X^2 Ronqueras Vs. Grupos

Grupo	Ronqueras		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	45	12	57
II	50	8	58
III	48	8	56
IV	31	25	56
TOTAL	174	53	227

$$X^2=0.000$$

Cuadro13. Prueba de X^2 Ronqueras Vs. Grupos Vacunados

Grupo	Ronqueras		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	45	12	57
II	50	8	58
III	48	8	56
TOTAL	143	28	171

$$X^2=0.504$$

Para determinar si existió relación entre la presencia de Secuela Nerviosa y los grupos, se realizó también una prueba de Chi cuadrado, la cual determinó que no hubo diferencia entre los grupos (Cuadro14).

Cuadro14. Prueba de X^2 Secuela Nerviosa Vs. Grupos

Grupo	Secuela Nerviosa		Total
	Animales Sanos	Animales Enfermos	
I	47	10	57
II	49	9	58
III	49	7	56
IV	-	-	-
TOTAL	145	26	171

$$X^2=0.754$$

La recuperación de las aves en los grupos experimentales se pudo observar a partir del día 11 a 12 luego de la infección, a excepción del grupo control no vacunado, pues las aves murieron antes (Figura4).

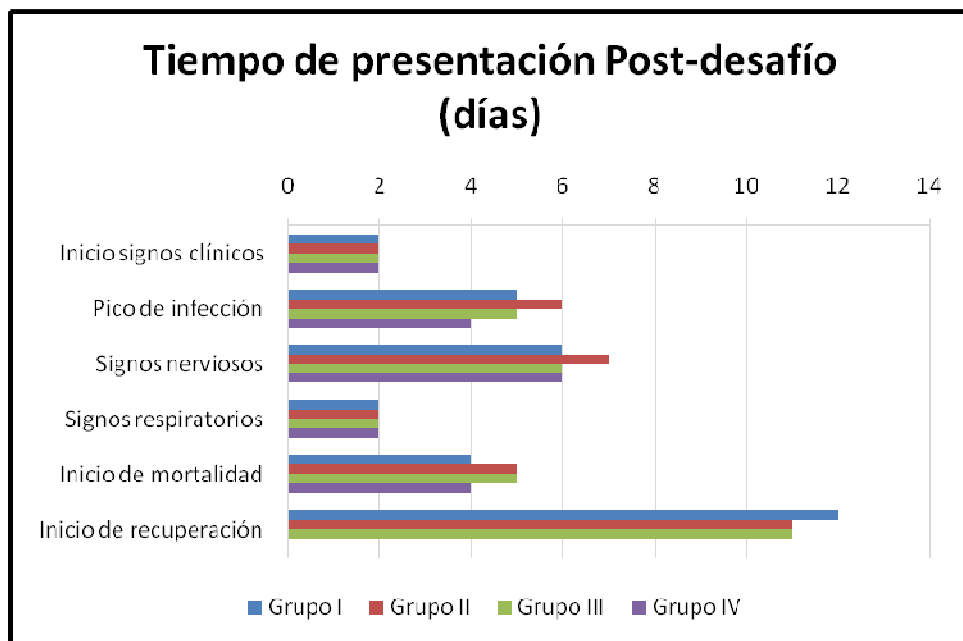


Figura 4. Tiempo de presentación de mortalidad y signos clínicos (Días post desafío) por grupo experimental.

Los títulos de anticuerpos contra el vENC se pueden apreciar en la Figura5, tanto al inicio, como a los días 29 y 45.

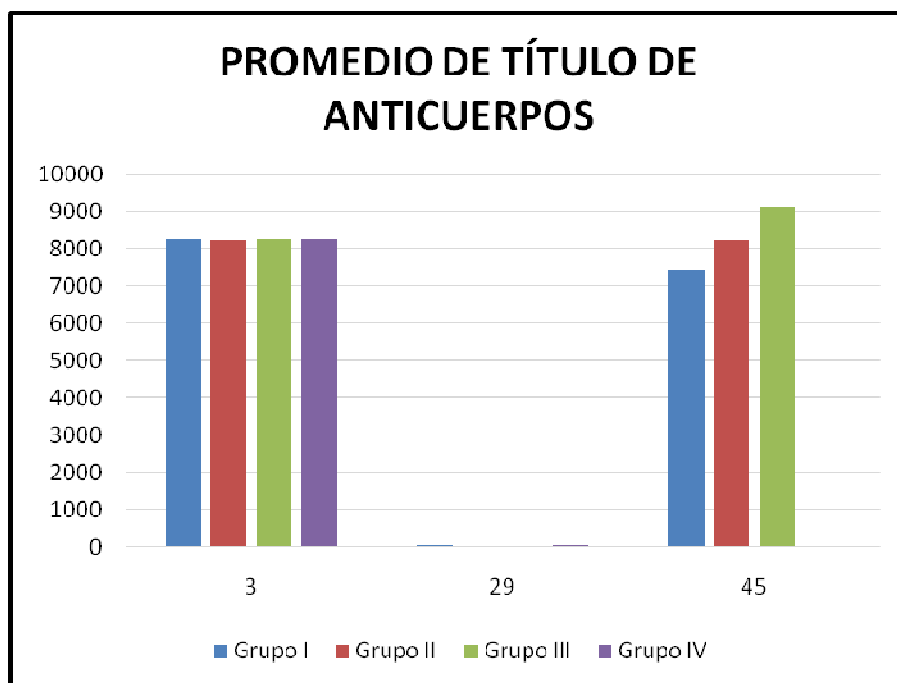


Figura 5. Títulos de anticuerpos (PGT) promedio contra el virus de la enfermedad de Newcastle por grupo experimental a los días 1, 29 y 45.

Se realizó una prueba de Kruskal Wallis para determinar si existió diferencia entre el título de anticuerpos a los 3, 29 y 45 días de edad. No se halló diferencia entre el título de anticuerpos a los días 3 y 45, sin embargo, a los 29 días se encontró una diferencia estadística entre el Grupo I y el Grupo II, así como también entre el Grupo II y el Grupo IV ($p < 0.05$) (Cuadro 15)

Cuadro 15. Promedio de Título de Anticuerpos

Edad (Días)	Grupos experimentales			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	8217 ± 2172 ^a	8218 ± 2172 ^a	8219 ± 2172 ^a	8220 ± 2172 ^a
29	63 ± 204 ^a	9 ± 175 ^b	12 ± 173 ^{ab}	78 ± 245 ^a
45	7443 ± 2772 ^a	8187 ± 2939 ^a	9105 ± 2455 ^a	-

(^a, ^b, ^{ab} Letras diferentes indican diferencia estadística significativa)

4.3 EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS

El grupo III presentó el mejor peso vivo promedio (2828.35 g.) al término del estudio. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los grupos experimentales al final del experimento. No obstante, se pudo observar que el grupo IV (control sin vacuna) presentó los mejores pesos promedios antes del desafío (Figura 6).

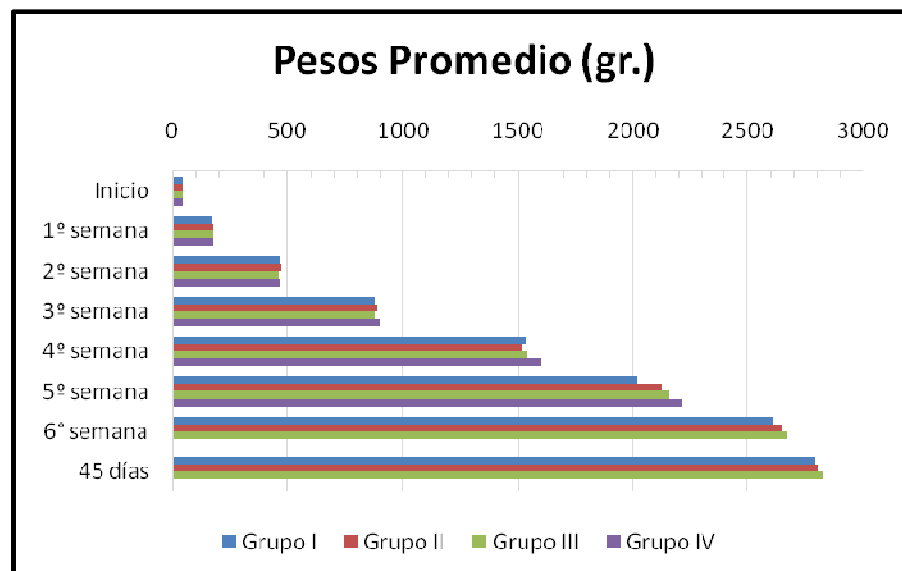


Figura 6. Peso corporal promedio (gramos) de grupo experimental según la edad.

Se realizó una prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para las variables de pesos, y se encontró que el peso inicial seguía una distribución normal ($p < 0.05$); mientras que las variables de peso a las semanas 1, 2, 3, 4, 5 y 6, así como a los 45 días, siguieron una distribución no normal. Se procedió a realizar un análisis de varianza de una vía para el peso inicial, encontrando que el peso inicial para el Grupo I, mostró diferencia estadística con los demás grupos ($p < 0.05$) (Cuadro16).

Para las variables de peso a las semanas 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y a los 45 días, se procedió a realizar una prueba de Kruskal Wallis. Entre las semanas 1 y 3 no se encontraron diferencias estadísticas significativas; sin embargo, a la semana 4 se encontró diferencias entre el Grupo IV y los demás grupos. En la semana 5, se halló diferencia estadística significativa entre el Grupo I y los Grupos II y III, mas no entre los demás grupos. En la semana 6, se encontró diferencia estadística significativa entre el Grupo I y el grupo II, mas no entre el grupo I y III o el grupo II y III. A los 45 días no se encontró diferencia significativa entre ninguno de los grupos.

Cuadro16. Peso corporal promedio (gramos) de grupo experimental según la edad.

Edad	Grupos experimentales			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Inicio	43.2 ^a	44.8 ^b	45.2 ^b	45.4 ^b
1º semana	172.4 ^a	175.4 ^a	176.4 ^a	174.2 ^a
2º semana	463.4 ^a	472.2 ^a	458.3 ^a	464.2 ^a
3º semana	874.2 ^a	886.4 ^a	875.4 ^a	897.3 ^a
4º semana	1534.2 ^a	1512.4 ^a	1542.6 ^a	1601.4 ^b
5º semana	2016.8 ^a	2128.4 ^b	2158.9 ^b	2216.4 ^{ab}
6º semana	2610.4 ^a	2644.2 ^{ab}	2672.4 ^b	-
45 días	2792.2 ^a	2803.8 ^a	2828.2 ^a	-

(^a, ^b, ^{ab} Letras diferentes indican diferencia estadística significativa)

El menor consumo de alimento fue observado en el grupo I (4803.1 g.) y el mayor consumo en el grupo II (4604.9 g.). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales vacunados hasta el término del estudio, pero si con el grupo control no vacunado (Figura7).

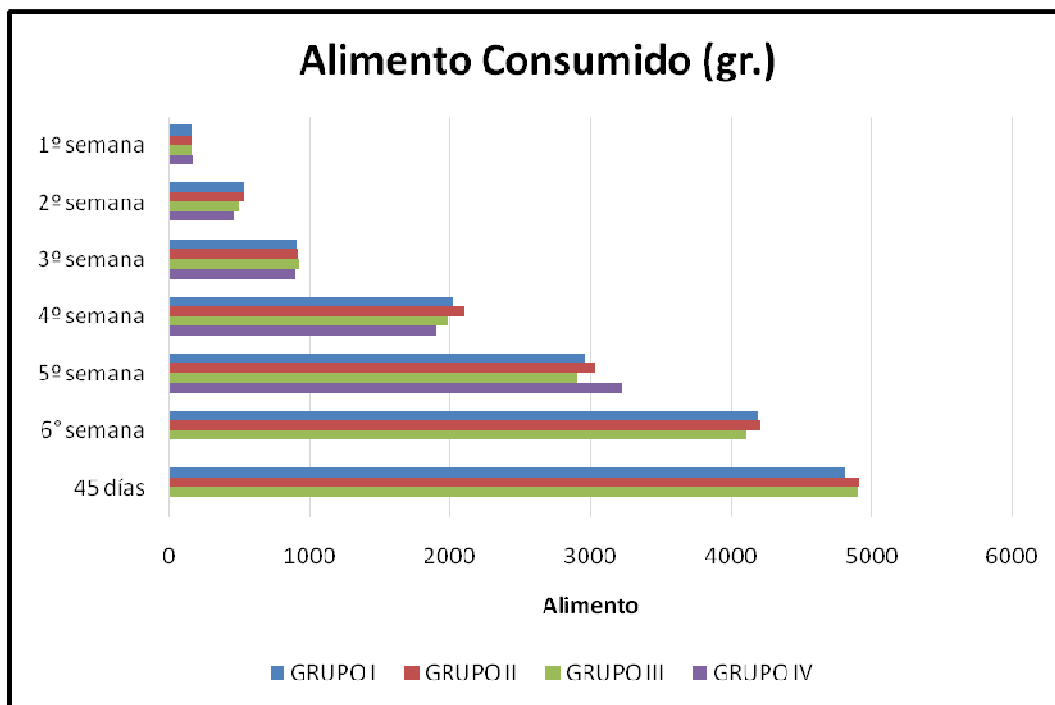


Figura 7. Consumo acumulado de alimento (gramos) por grupo experimental hasta los 45 días de edad.

La mejor conversión alimenticia fue variable a lo largo de los 45 días de duración de la parte experimental. Al día 45 se observó que el mayor Ica fue registrado en el grupo I (1.72) en comparación a los otros grupos experimentales; sin embargo, no existió una diferencia significativa entre los grupos experimentales vacunados (Figura8).

En laFigura9 se puede observar que el grupo I culminó el estudio con el mejor índice de eficiencia productivo, en comparación con los otros grupos experimentales.

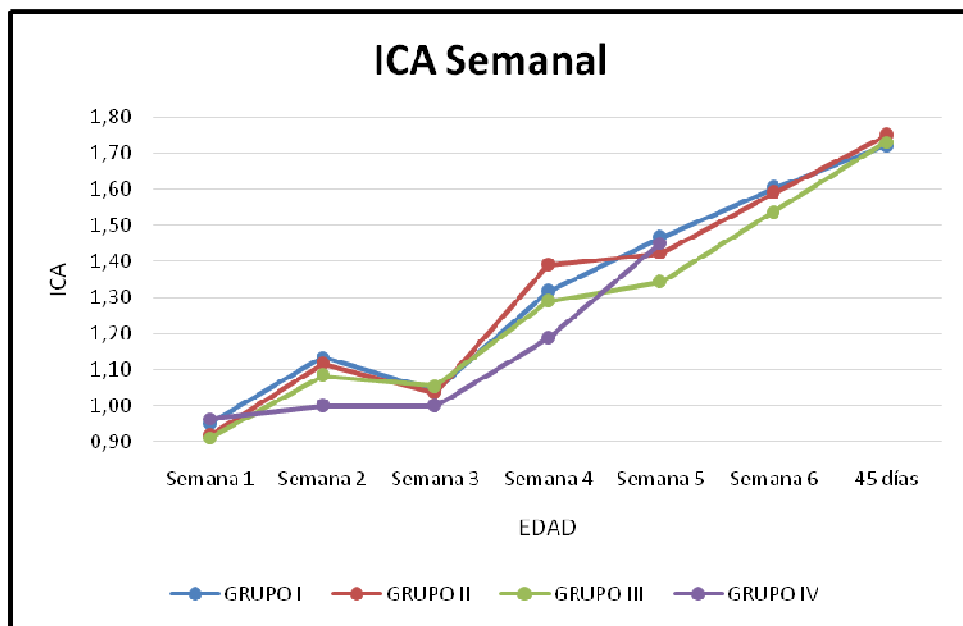


Figura 8. Índice de Conversión alimenticia (ICA) por grupo experimental semanal.

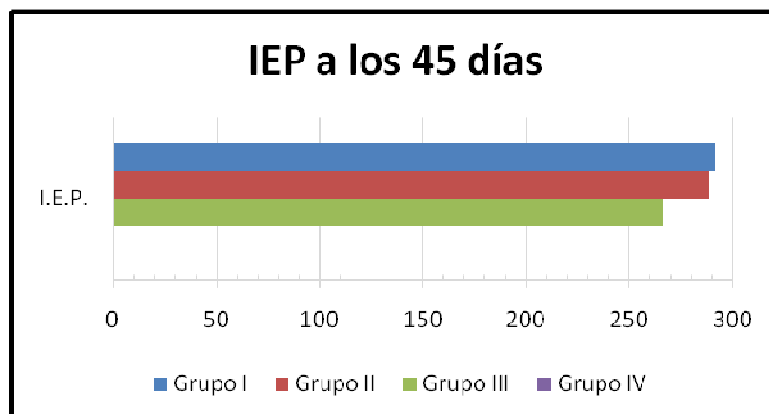


Figura 9. Índice de Eficiencia Productiva (I.E.P.) por grupo experimental a los 45 días de edad.

V. DISCUSIÓN

El estudio comparó la protección inducida por tres programas de vacunación usando una vacuna entérica aplicada sola con una o dos revacunaciones o, reforzada con una vacuna inactivada. La protección mostrada por los grupos vacunados fue mayor al 70%. Este porcentaje de protección concuerda con trabajos similares realizados con otros tipos de vacunas contra la ENC. Entre estos trabajos podemos mencionar el trabajo realizado por Chansiripornchai y Sasipreeyajan (2006), quienes lograron obtener porcentajes de protección de $65.57 \pm 18.64 \%$ en aves vacunadas con la Cepa B1 vía spray y una vacuna inactivada de adyuvante oleoso (IOAV, por sus siglas en inglés “Inactivated Oil Adjuvant Vaccine”) por vía subcutánea, y $88.57 \pm 9.00 \%$ en aves vacunadas con la cepa Ulster 2C vía spray y la vacuna IOAV por vía subcutánea; ambos grupos vacunados al primer día de edad y desafiados a los 28 días de edad.

Linghua *et. al.* (2006) lograron una protección de 62.67% en pollos SPF, luego de usar una sola vacunación con una vacuna viva atenuada (La Sota). Sin embargo, al añadir al adyuvante oligodeoxinucleotidos con gran cantidad de uniones CpG no metiladas, lograron aumentar la protección a un 94.69% en pollos SPF, usando la misma cepa vacunal. Esta abismal diferencia entre los tratamientos del presente trabajo y los mostrados por Linghua *et. al.* se debería al efecto positivo del adyuvante sobre el sistema inmune promoviendo respuestas humorales tipo Th1.

En otro trabajo usando vacunas recombinantes con un baculovirus conteniendo los genes de la proteína de fusión (F) y de la glicoproteína hemaglutinina-neuroaminidasa (HN) de una cepa velogénica viscerotrópica del vENC Kr-005/00, se logró un 100% de protección y redujo significativamente la expulsión del vENC (Lee *et. al.*, 2008).

Wambura (2011), demostró que la aplicación oral de una vacuna nano-encapsulada contra la ENC; preparada usando gelatina, trehalosa y caseína como termo-estabilizadores y aglutinantes, respectivamente, y conteniendo una concentración de $10^{8.5}$ EID₅₀/0.1 mL de la cepa I-2 del vENC; logró obtener una protección de 100% en pollos de crianza semi-intensiva, luego de haber sido desafiados con una cepa virulenta del vENC.

Por otro lado, se han realizado trabajos de investigación usando vacunación *in ovo* mostrando resultados muy alentadores. Entre estos trabajos podemos mencionar el realizado por Steel *et. al.* (2008), se logró obtener un 90% de protección contra la ENC y 80% contra un virus H5N1 de Influenza Aviar, usando como vacuna un virus recombinante bivalente, que expresa la proteína H5 modificada al retirar el péptido polibásico de anclaje y el ectodominio de la proteína hemaglutinina-neuroaminidasa (HN) en lugar de la Neuraminidasa de la influenza, aplicada a huevos embrionados de 18 días de edad.

En 2014, Ge *et. al.* logró obtener una protección de 100% en aves SPF y broilers de crianza comercial usando como vacuna un virus quimérico de la ENC cepa La Sota, expresando la proteína VP2 de un virus altamente virulento de la enfermedad de Gumboro o enfermedad infecciosa de la Bursa (rLaC30L-VP2) a una dosis de $10^{3.5}$ ELD₅₀. La vacuna fue aplicada *in-ovo*, tanto a huevos SPF, como a huevos de crianza comercial, de 18 días de edad, para que luego, las aves fueran desafiadas; a los 22 días de edad, en el caso de pollos SPF, o a los 28 días de edad, en el caso de broilers de crianza comercial; con 10^5 ELD₅₀ de un vENC altamente patógeno por vía intramuscular.

Las vacunas vivas contra la enfermedad de Newcastle pueden ser de tropismo respiratorio o entérico, y se considera que las vacunas de tropismo intestinal como la cepa VG-GA usada en el estudio no producen reacciones vacunales tan marcadas (Villegas *et al.*, 1995), sin embargo en el presente estudio las aves de los tres grupos vacunados presentaron reacciones post vacunales leves. La mayor cantidad y severidad de reacciones post vacunales fueron observadas entre los días 8 y 14 post-vacunación, siendo el Grupo I el tratamiento con la menor cantidad de aves con reacciones post-vacunales, y el Grupo III, el tratamiento con la menor severidad de reacciones post-

vacunales; lo cual significa una diferencia al comparar estos resultados con los obtenidos por Perozo *et. al.* (2004), quien logró identificar que la mayor cantidad y severidad de reacciones post vacunales se daban entre los días 8 y 14 post vacunación, tanto al usar una vacuna inactivada y dos revacunaciones con la cepa La Sota, como al usar una vacunación inicial con la vacuna viva B1B1 y dos revacunaciones con la cepa La Sota, todas separadas por un período de 7 días entre sí. Por otro lado, Perozo *et. al.* también logró obtener menores índices de estrés post-vacunal cuando utilizó un cronograma de vacunación usando una vacuna inactivada seguida por dos revacunaciones con vacunas vivas; sin embargo, se describieron mayores reacciones post-vacunales que en el presente trabajo, esto debido a que la vacuna viva usada por Perozo fue La Sota, cepa considerada como invasiva y que tiende a generar grandes reacciones post-vacunales, mientras que la usada en el presente trabajo fue la cepa VG-GA, la cual se replica tanto en tejido respiratorio como intestinal, produciendo una inmunidad comparable a las cepas agresivas, mas no generando reacciones post-vacunales tan marcadas (Villegas *et al*, 1995). Lamentablemente los estudios disponibles sobre vacunas entéricas contra la enfermedad de Newcastle solo se enfocan en protección vacunal y no consideran las reacciones post vacunales.

Respecto a la respuesta serológica fue evaluada la inmunidad pasiva de anticuerpos en las aves, se obtuvieron elevados títulos de anticuerpos maternos contra el vENC a los 3 días de edad, los cuales están directamente relacionados a los niveles de anticuerpos de las madres. También fue evaluada la respuesta serológica activa, el primer muestreo se realizó un día después del desafío viral a los 29 días de edad, a esta edad todas las aves fueron positivas a anticuerpos pero en todos los grupos con títulos bajos; esto debido a la disminución de anticuerpos maternos y a la dominancia de la inmunidad celular. Contrariamente los resultados de los muestreos realizados en el día 45, mostraron una muy notoria elevación en el título de anticuerpos, debido a la activación de la inmunidad humoral luego del desafío viral. Es conocido que en aves sobrevivientes al desafío, los anticuerpos empiezan a aumentar a partir de los 6 a 10 días, y pueden llegar a su pico de 3 a 4 semanas luego del desafío, dependiendo de la cepa infecciosa, cabe mencionar que los anticuerpos protectivos están dirigidos a cualquiera de los glicopeptidos de superficie (HN o F) (Alexander, 2003).

Se evaluaron los parámetros productivos de las aves a lo largo del estudio, al primer día de edad el peso semanal de los animales, mostró diferencia estadística significativa entre las aves del grupo 1 y el resto de grupos, lo que indica que la crianza se inició con una desuniformidad del lote. No fue posible evaluar el impacto del desafío sobre los parámetros productivos de las aves en comparación al grupo no vacunado, debido a que todas las aves de este grupo murieron antes de las 6 semanas. Entre los grupos vacunados se encontró diferencias en el peso corporal a la sexta semana, sin embargo al final del estudio no se evidenció diferencias estadísticas entre ninguno de los grupos. Perozo *et. al.* (2004) obtuvo un promedio de 2,192 Kg para aves vacunadas con una vacuna inactivada y revacunadas dos veces con La Sota, a los 42 días de edad sin haber sido desafiadas, con un ICA de 1,45. En materia de pesos, las aves del presente experimento mostraron un mayor peso, inclusive después de haber sido desafiadas, mostraron pesos superiores a los 2,6 Kg, lo que puede verse explicado al mejor comportamiento productivo de la línea Cobb, usada en el presente experimento, frente a la línea Ross, usada en el experimento realizado por Perozo *et. al.* (2004), así como al factor ambiental, pues las temperaturas promedio en Venezuela son mucho mayores a las de Perú (Rosero *et. al.*, 2012). Sin embargo, en el presente trabajo, al igual que en el realizado por Perozo *et. al.* (2004), no se encontraron diferencias entre los grupos vacunales y los pesos finales o ICA, lo que indica que estas variables no están influenciadas por el tipo de vacuna usado en el programa vacunal.

VI. CONCLUSIONES

- Los tres programas vacunales usados en el presente estudio protegieron a las aves de un desafío con una cepa patógena del vENC.
- La vacuna entérica con la cepa VG-GA usada en el estudio generó en las aves de los grupos vacunados una reacción post vacunal de grado leve.
- Previo al desafío, la respuesta serológica en los grupos vacunados fue nula o de muy bajo nivel. Posterior al desafío, al final del estudio, el grupo III vacunado con dos vacunas entéricas tuvo el mayor nivel y la mayor dispersión de títulos de anticuerpos en comparación a los grupos I y II que mostraron una vigorosa respuesta serológica de anticuerpos.
- En el presente estudio, dentro de los grupos vacunados, se obtuvo 7 y 8 % de mejor protección contra la enfermedad de Newcastle en los grupos II (vacunado al día 1, 8 y 18 con la vacunas entéricas que contienen la cepa VG) y el grupo I (vacunado con el programa mixto: 2 vivas y 1 inactivada oleosa), respectivamente, que el grupo III (vacunado con sólo dos vacunas vivas entéricas).

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Alexander, D. 2003. Newcastle Disease and Other Avian Paramixoviridae Infections. En: Diseases of Poultry, Cap 2. 11° Edition. Saif, Barnes, Glisson, Fadly, McDougald, Swayne (eds.) AAAP Iowa State University-USA. 63-87.
2. Alva, B. 2001. Newcastle velogénico siempre un tema de actualidad. En: memorias XXIV reunión científica anual peruana de producción animal, del 10 – 13 de septiembre. Lima – Perú.
3. Antillon, A. 2005. Enfermedad de Newcastle. En: XVII curso avimex de salud y productividad. Enfermedades virales de alto impacto en la avicultura. 29 de Julio. México DF. Pgs 27 – 43.
4. Baes, J. 1994. Patología de las aves. P. 14-18. Editorial Trillas. México.
5. Bains, BS. 1979. Manual of poultry diseases. Roche Baste-USA.
6. Beard, C. 1983. La enfermedad de Newcastle características y medidas de control. En: Memorias C seminario internacional de patología aviar, del 28 de Agosto al 2 de Septiembre. Georgia – Estados Unidos.
7. Brown, I; Alexander, D. 2003. Newcastle disease. En: II Seminario Internacional Influenza Aviar y Enfermedad de Newcastle “Estandarización de Criterios Sanitarios para el Comercio” ALA-OIE. 13-15 de Agosto. Lima-Perú.

8. Carrión, 2000. Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle en aves silvestres del orden columbiforme en Baños de Boza, distrito de Aucallama, provincia de Huaral. Tesis para optar por el título profesional de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
9. 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 para optar por el título profesional de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
10. Chansiripornchai, N y Sasipreeyajan, J. 2006. Efficacy of live B1 or Ulster 2C Newcastle disease vaccines simultaneously vaccinated with inactivated oil adjuvant vaccine for protection of Newcastle disease virus in broiler chickens. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2006, 48:2.
11. 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.
12. 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.
13. Comotto, G E. 2000. Enfermedad de Newcastle en: *Enfermedades de las aves*. Imprenta Zagazeta S. R. Ltda. Lima-Perú. 106-113.
14. 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 – 10 de Junio. Georgia – Estados Unidos.
15. Dive, A. 1950. La enfermedad de Newcastle (neumoencefalitis aviar) en Venezuela. *Bol. Inst. Invest. Vet.* 3: 547-575.
16. Fenner, F. 1992. *Virología Veterinaria*. P 503-514. Ed. Acribia S.A. Zaragoza-España.

17. Ferrer, R. 2005. Prevalencia de anticuerpos al virus de la Enfermedad de Newcastle en aves domésticas *Gallus gallus* del departamento de Lima en el año 2001 – Estudio caso control. Tesis para optar por el título profesional de Médico veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
18. Ge, J; Wang, X; Tian, M; Wen, Z; Feng, Q; Qi, X; Gao, H; Wang, X; Bu, Z. 2014. Novel *in-ovo* chimeric recombinant Newcastle disease vaccine protects against both Newcastle disease and infectious bursal disease. *Vaccine*. 2014 Mar 14; 32(13):1514-21.
19. 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.
20. Hung, A; Medrano, G; Vallenias, G. 2004. Diagnóstico molecular de Newcastle mediante RT-PCR y RFLP. *Mundo avícola y porcino* 50 Mar-Abr, Págs. 7-9.
21. Jordan, F T W. 1990. Paramyxoviridae (Newcastle disease and others). En: *Poultry Diseases*. 3° ed. Bailliere Tindal. Londres- Inglaterra. 121-126.
22. King, D. 1999. Enfermedad de Newcastle en: XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura por la Alimentación del Futuro. APA-ALA 21-24 de Septiembre. Lima-Perú. 56-61.
23. Lee, YJ; Sung, HW; Choi, JG; Lee, EK; Yoon, H; Kim, JH; Song, CS. 2008. Protection of chickens from Newcastle disease with a recombinant baculovirus subunit vaccine expressing the fusion and hemagglutinin-neuraminidase proteins. *J. Vet. Sci.* (2008), 9(3), 301-308.
24. Linghua, Z; Xingshan, T; Fengzhen Z. 2007. Vaccination with Newcastle disease vaccine and CpG oligodeoxynucleotides induces specific immunity and protection against Newcastle disease virus in SPF chicken. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 115-2007: 216–222
25. Martins, P. 2003. Impacto económico de las enfermedades avícolas de la lista “A” de la OIE. En: II Seminario Internacional de Influenza Aviar y Enfermedad de

Newcastle, “Estandarización de Criterios Sanitarios para el comercio” del 13 – 15 de agosto. Lima – Perú.

26. Mayo, M. 2002. Virus taxonomy Houston 2002. Archives of virology. 147: 1071-1076.
27. Mora M. 2005. Enfermedad de Newcastle. Tesina para optar por el título profesional de Médico veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
28. Morales, OE. 1995. Consideraciones sobre el control de la enfermedad de Newcastle. En: IV Congreso nacional de Avicultura APA, 23-26 de Agosto 1995. Arequipa-Perú.
29. Office International des épizooties (OIE). 2002. Enfermedad de Newcastle.
30. Organización Mundial de Sanidad Animal. 2012. Paris: OIE [Internet], [19 de Febrero 2012]. Disponible en: <http://www.oie.int/es>
31. Perozo, F; Nava, J; Rivera S; Mavarez, Y; Aquillon, V; Pino, V. 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 de Zulia, Venezuela. 1. Parámetros productivos y reacción postvacunal. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIV, Nº 4, 331 - 337, 2004
32. Philipps, L; Navaes, O; Fernandes, L. 1951. La neumoencefalitis aviar en el Perú. Rev. Inst. Nac. Biol. Animal. 2: 31-51
33. Quintero, D. 1989. Las pruebas de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación en la serología de la enfermedad de Newcastle I. Revista Cubana de Ciencia Avícola, 16: 81-89.
34. Ravina, P. 2005. 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 Médico veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

35. Ritchie, B. 1994. Avian Medicine. Principles and application. p. 921 – 926. Wingers Publishing Inc. Florida – USA.
36. Rojo, M E. 1991. Enfermedades de las Aves. 2º Ed. Compañía Editorial Trillas. México. p 344.
37. Rosero, JP; Guzman, EF; Lopez, FJ. 2012. Evaluación del comportamiento productivo de las líneas de pollos de engorde Cobb 500 y Ross 308. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Vol. 10 No. 1 (8 - 15) Enero - Junio 2012.
38. Seal, B; Wise, M; Pedersen, J; Senne, D; Alvarez, R; Scott, M; King, D; Yu, Q; Kapczynski, D. 2005. Genomic sequences on low virulence avian paramyxovirus 1 (Newcastle disease virus) isolates obtained from live-markets in North America not related to commonly utilized commercial vaccine strains. *Veterinary Microbiology*. 106: 7-16.
39. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2012. Lima: SENASA [Internet], [19 de Febrero 2012]. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe>
40. 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 para optar por el título profesional de Médico veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
41. Silva, A. 1997. Inmunoprotección por vacuna oleosa y/o viva frente a una infección experimental de la enfermedad de Newcastle en pollos de carne. Tesis para optar por el título profesional de Médico veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
42. Steel, J; Burmakina, S; Thomas, C; Spackman, E; García-Sastre, A; Swayne, D; Palese, P. 2008. A combination in-ovo vaccine for avian influenza virus and Newcastle disease virus. *Vaccine* (2008) 26, 522—531

43. Villegas, P; Avellaneda, G. 1995. Enfermedad de Newcastle. En: II Seminario Técnico Avícola – Simposio de Salmonella enteritidis, 6-19 de mayo. Santa Cruz Bolivia. 161-165.
44. Wambura, PN. 2011. Formulation of novel nano-encapsulated Newcastle disease vaccine tablets for vaccination of village chickens. Trop Anim Health Prod (2011) 43:165–169

VIII. APÉNDICE

Cuadro A1. vENC utilizadas como vacunas

Cepa	Patotipo	IPIC	Derivación	Uso en pollos	Vías de Administración
La Sota	Lentogénico	0.40	Aislado de campo	Primaria	In, Io, Dw, Sp, Aer
F (Asplin)	Lentogénico	0.25	Aislado de campo	Primaria	In, Io, Dw, Sp, Aer
Hitchner B1	Lentogénico	0.20	Aislado de campo	Primaria	In, Io, Dw, Sp, Aer, Bd
V4	Entérico asintomático	0.00	Aislado de campo	Primaria	In, Io, Sp, Aer, Or
Cepa H	Mesogénico	1.40	Atenuado por pasaje en huevos	Secundaria	IM, SC
Mukteswar	Mesogénico	1.40	Atenuado por pasaje en huevos	Secundaria	IM, SC
Roakin	Mesogénico	1.45	Aislado de campo	Secundaria	IM, WW

In: Intranasal; Io: Intraocular; Dw: agua de bebida; Sp: Spray; Aer: Aerosol; Bd: sumergido de pico; Or: oral; IM: Intramuscular; SC: subcutáneo; WW: Punción alar

Fuente: Alexander, 2003

Cuadro A2. Porcentaje de aves con signos clínicos (estornudos y ronqueras) hasta los 21 días de edad por grupo experimental.

Días de edad	% Reacciones post vacunales			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	5	10	5	0
6	15	15	15	0
7	20	25	25	0
8	30	35	35	0
9	45	50	60	0
10	25	65	35	0
11	15	45	25	0
12	5	35	15	0
13	5	20	5	0
14	5	10	5	0
15	0	5	5	0
16	0	5	5	0
17	0	5	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0

Cuadro A3. Grados de evaluación de signos clínicos hasta los 21 días de edad por grupo experimental

Días de edad	% Reacciones post vacunales (Grados)			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	1	1	1	0
6	1	1	1	0
7	1	1	1	0
8	2	2	2	0
9	2	2	3	0
10	1	3	2	0
11	1	2	1	0

12	1	2	1	0
13	1	1	1	0
14	1	1	1	0
15	0	1	1	0
16	0	1	1	0
17	0	1	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0

Cuadro A4. Promedio de intensidad de reacción post-vacunal promedio hasta los 21 días de edad por grupo experimental.

Días de edad	Severidad de signos clínicos			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0.3	0.4	0.3	0
6	0.6	0.8	0.3	0
7	1.1	1.2	0.3	0
8	0.7	0.9	0.4	0
9	0.4	0.9	0.7	0
10	0.3	1.2	0.9	0
11	0.3	1.6	0.6	0
12	0.7	1.6	0.5	0
13	0.4	0.8	0.3	0
14	0.2	0.6	0.1	0
15	0.2	0.3	0.1	0
16	0	0.3	0.1	0
17	0	0.2	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0

Cuadro A5. Porcentaje de mortalidad y signos clínicos post-desafío por grupo experimental.

Signos clínicos	Grupos experimentales			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Mortalidad	19.3	19.0	26.8	100
Depresión	46.2	29.4	34.1	84.6
Diarreas	55.8	45.5	42.5	51.3
Edema facial	32.1	10.9	21.4	92.3
Secreciones	21.4	14.5	10.7	71.8
Ronquera	21.4	14.5	14.3	46.2
Secuela nerviosa	17.4	14.9	12.2	ND
Nº aves desafiadas	57	58	56	56

Cuadro A6. Tiempo de presentación de mortalidad y signos clínicos (Días post desafío) por grupo experimental.

Variable	Grupos experimentales			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Inicio signos clínicos	2	2	2	2
Pico de infección	5	6	5	4
Signos nerviosos	6	7	6	6
Signos respiratorios	2	2	2	2
Inicio de mortalidad	4	5	5	4
Inicio de recuperación	12	11	11	ND

Cuadro A7. Consumo acumulado de alimento (gramos) por grupo experimental hasta los 45 días de edad.

Edad	Grupos experimentales			
	I	II	III	IV
1ª semana	164.1	161.6	160.9	168.3
2ª semana	526.4	527.4	496.8	464.2
3ª semana	911.4	919.8	924.6	897.3
4ª semana	2018.7	2101.9	1989.2	1901.4
5ª semana	2958.3	3030.04	2900.4	3216.4
6ª semana	4182.9	4202.1	4108.4	-
45 días	4803.1	4904.9	4892.7	-

Cuadro A8. Índice de Conversión alimenticia (ICA) por grupo experimental obtenida a los 45 días de edad.

Edad	Grupos experimentales			
	I	II	III	IV
Consumo de alimento/ave (g.)	4803.1	4904.9	4892.7	-
Peso promedio vivo (gramos)	2792.2	2803.8	2828.2	-
ICA	1.72	1.75	1.73	-

Cuadro A9. Índice de Eficiencia Productiva (I.E.P.) por grupo experimental a los 45 días de edad.

Edad	Grupos experimentales			
	I	II	III	IV
Ganancia (g.)	62.1	62.3	62.9	-
I.C.A.	1.72	1.75	1.73	-
Viabilidad	80.7	81.1	73.2	-
I.E.P.	291.4	288.7	266.1	-

Cuadro A10. Peso corporal de cada ave por grupo experimental al primer día de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	47	44	52	43
2	40	45	46	46
3	48	46	48	48
4	46	40	47	40
5	45	39	45	44
6	45	48	48	45
7	46	46	50	41
8	40	42	46	47
9	40	45	37	42
10	45	52	51	48
11	42	39	40	46
12	41	44	46	48
13	44	51	50	45
14	49	44	40	43
15	47	50	45	47
16	40	42	41	46
17	43	43	41	42
18	41	44	40	51
19	39	45	43	49

20	49	43	42	44
21	42	45	41	47
22	43	42	42	46
23	39	45	47	51
24	47	47	44	46
25	38	48	43	45
26	42	44	51	45
27	43	49	44	46
28	41	47	45	41
29	39	42	39	45
30	51	42	44	41
31	47	39	45	46
32	45	46	44	50
33	41	44	46	45
34	38	45	44	44
35	38	42	46	46
36	41	46	41	47
37	41	47	49	47
38	44	45	46	45
39	42	39	46	38
40	35	39	44	42
41	44	44	48	46
42	43	42	47	44
43	46	43	48	47
44	37	41	49	45
45	45	45	55	48
46	43	43	44	46
47	48	52	45	42
48	45	52	43	41
49	40	46	45	42
50	35	43	46	47
51	44	45	45	48
52	44	45	45	50
53	45	42	45	46
54	46	43	44	47
55	44	48	48	44
56	43	46	42	48
57	46	48	40	46
58	46	47	48	45
59	45	48	46	46
60	46	48	48	49

Cuadro A11. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la primera semana de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	176	223	163	179
2	185	232	175	178
3	173	172	184	155
4	190	155	175	171
5	197	168	161	148
6	171	153	178	167
7	181	193	162	185
8	164	176	175	108
9	195	199	203	174
10	170	178	178	171
11	177	155	163	195
12	169	211	179	178
13	172	148	172	166
14	169	167	179	179
15	178	185	183	168
16	162	148	158	198
17	199	174	205	175
18	178	171	179	186
19	202	195	172	160
20	158	151	182	166
21	169	196	185	171
22	137	211	194	162
23	163	188	168	178
24	165	178	171	168
25	174	152	156	153
26	166	171	163	193
27	173	208	170	176
28	171	158	180	189
29	172	197	170	178
30	150	167	156	155
31	172	184	168	161
32	167	188	147	188
33	163	170	199	177
34	165	162	170	185
35	175	179	174	198
36	176	191	166	172
37	167	172	172	170
38	163	166	209	162
39	172	156	199	183
40	181	169	176	182

41	178	164	179	185
42	172	174	160	175
43	171	170	177	186
44	166	184	180	187
45	164	172	185	163
46	179	176	178	172
47	171	178	191	201
48	167	145	207	198
49	172	165	157	172
50	169	173	181	191
51	204	159	178	181
52	174	166	186	172
53	180	167	171	166
54	164	172	166	156
55	162	168	184	174
56	176	174	179	164
57	183	172	171	174
58	145	180	187	170
59	165	177	172	184
60	-	169	-	-

Cuadro A12. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la segunda semana de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	473	456	491	502
2	523	398	468	437
3	431	450	453	432
4	432	486	450	457
5	470	530	468	466
6	357	357	455	463
7	528	472	464	424
8	379	480	483	472
9	470	496	397	485
10	432	502	463	448
11	481	437	448	479
12	486	432	453	353
13	534	457	420	557
14	446	466	470	407
15	438	512	471	429
16	428	484	479	471
17	474	472	453	446
18	391	485	531	526

19	483	448	491	384
20	422	479	448	429
21	438	353	436	418
22	487	557	542	306
23	458	407	505	515
24	470	429	494	489
25	455	471	493	441
26	526	446	397	452
27	384	374	429	512
28	429	482	426	518
29	418	511	455	520
30	306	493	457	470
31	515	463	389	471
32	489	474	482	479
33	441	475	450	453
34	452	495	457	531
35	512	486	480	491
36	518	564	421	448
37	520	497	498	436
38	485	537	428	542
39	538	436	452	505
40	478	545	467	494
41	457	452	466	493
42	474	499	468	397
43	456	448	481	429
44	492	465	442	476
45	516	479	456	455
46	483	469	462	472
47	421	455	451	389
48	468	356	488	482
49	451	489	484	459
50	480	480	460	465
51	512	540	445	481
52	432	476	478	454
53	465	500	425	531
54	488	472	489	480
55	464	486	440	496
56	460	490	404	460
57	512	540	416	483
58	448	452	428	464
59	465	518	442	-
60	-	-	-	-

Cuadro A13. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la tercera semana de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	1022	1003	885	809
2	830	921	898	903
3	992	818	863	996
4	1016	790	885	868
5	841	854	829	956
6	774	746	872	864
7	618	759	891	970
8	813	802	922	808
9	657	786	834	863
10	887	809	762	945
11	996	903	861	901
12	998	996	866	855
13	792	868	894	771
14	789	956	868	902
15	861	864	898	930
16	980	970	797	724
17	1022	868	852	753
18	738	863	918	945
19	968	945	909	922
20	795	901	825	834
21	552	855	924	862
22	819	871	923	861
23	767	902	917	866
24	884	930	906	894
25	936	824	976	958
26	792	753	978	898
27	1088	945	964	797
28	927	709	983	852
29	876	892	833	918
30	898	874	919	909
31	577	910	775	825
32	852	886	873	924
33	859	860	827	923
34	836	894	843	917
35	878	965	825	906
36	871	910	842	976
37	902	833	819	952
38	898	938	890	918
39	886	914	824	1009
40	960	727	938	825

41	885	811	884	924
42	882	843	682	873
43	916	1101	828	917
44	904	1039	825	906
45	860	856	813	956
46	940	817	718	968
47	916	880	1006	1064
48	821	820	852	983
49	737	965	1091	833
50	926	884	920	914
51	884	923	880	875
52	935	968	872	873
53	916	890	826	837
54	908	1025	886	843
55	880	1072	870	825
56	956	895	916	996
57	1010	916	978	1045
58	978	852	820	-
59	-	926	-	-
60	-	-	-	-

Cuadro A14. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la cuarta semana de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	1682	1629	1552.2	1513
2	1490	1547	1565.2	1607
3	1652	1444	1530.2	1700
4	1676	1416	1552.2	1572
5	1501	1480	1496.2	1660
6	1434	1372	1539.2	1568
7	1278	1385	1558.2	1674
8	1473	1428	1589.2	1512
9	1317	1412	1501.2	1567
10	1547	1435	1429.2	1649
11	1656	1529	1528.2	1605
12	1658	1622	1533.2	1559
13	1452	1494	1561.2	1475
14	1449	1582	1535.2	1606
15	1521	1490	1565.2	1634
16	1640	1596	1464.2	1428
17	1682	1494	1519.2	1457
18	1398	1489	1585.2	1649

19	1628	1571	1576.2	1626
20	1455	1527	1492.2	1538
21	1212	1481	1591.2	1566
22	1479	1497	1590.2	1565
23	1427	1528	1584.2	1570
24	1544	1556	1573.2	1598
25	1596	1450	1643.2	1662
26	1452	1379	1645.2	1602
27	1748	1571	1631.2	1501
28	1587	1335	1650.2	1556
29	1536	1518	1500.2	1622
30	1558	1500	1586.2	1613
31	1237	1536	1442.2	1529
32	1512	1512	1540.2	1628
33	1569	1486	1494.2	1627
34	1496	1520	1510.2	1621
35	1538	1591	1492.2	1610
36	1581	1536	1509.2	1680
37	1562	1459	1486.2	1656
38	1558	1564	1557.2	1622
39	1550	1540	1491.2	1713
40	1620	1353	1605.2	1529
41	1545	1437	1551.2	1628
42	1542	1469	1410	1577
43	1576	1727	1495.2	1621
44	1564	1665	1492.2	1620
45	1520	1482	1465	1660
46	1600	1443	1385.2	1672
47	1576	1506	1663	1768
48	1481	1446	1519.2	1687
49	1397	1591	1748	1537
50	1586	1510	1587.2	1618
51	1544	1549	1567	1629
52	1595	1594	1539.2	1577
53	1576	1516	1493.2	1541
54	1568	1651	1553.2	1547
55	1540	1698	1537.2	1629
56	1616	1521	1583.2	1700
57	1670	1542	-	-
58	-	1520	-	-
59	-	-	-	-
60	-	-	-	-

Cuadro A15. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la quinta semana de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	2164	2245	2168.2	2370
2	1972	2163	2181.2	2063
3	2134	2060	2146.2	-
4	2158	2032	2168.2	-
5	1983	2096	2112.2	-
6	1916	1988	2155.2	-
7	1760	2001	2174.2	-
8	1955	2044	2205.2	-
9	1799	2028	2117.2	-
10	2029	2051	2045.2	-
11	2138	2145	2144.2	-
12	2140	2238	2149.2	-
13	1934	2110	2177.2	-
14	1931	2198	2151.2	-
15	2003	2106	2181.2	-
16	2122	2212	2080.2	-
17	2164	2110	2135.2	-
18	1880	2105	2201.2	-
19	2110	2187	2192.2	-
20	1937	2143	2108.2	-
21	1694	2097	2207.2	-
22	1961	2213	2206.2	-
23	1909	2144	2200.2	-
24	2026	2172	2189.2	-
25	2078	2166	2259.2	-
26	1934	2095	2261.2	-
27	2230	2187	2247.2	-
28	2069	1951	2266.2	-
29	2018	2134	2116.2	-
30	2040	2116	2202.2	-
31	1819	2152	2058.2	-
32	1994	2128	2156.2	-
33	2051	2202	2230	-
34	1978	2136	2126.2	-
35	2120	2207	2108.2	-
36	2063	2152	2125.2	-
37	2044	2075	2202	-
38	2140	2180	2183	-
39	2032	2156	2107.2	-
40	2102	1969	2221.2	-

41	2027	2045	2167.2	-
42	2024	2085	2026	-
43	2058	2336	2111.2	-
44	2046	2378	2108.2	-
45	2002	2098	2031	-
46	2082	2059	2201	-
47	2058	2118	-	-
48	1963	2152	-	-
49	1979	-	-	-
50	2068	-	-	-
51	-	-	-	-
52	-	-	-	-
53	-	-	-	-
54	-	-	-	-
55	-	-	-	-
56	-	-	-	-
57	-	-	-	-
58	-	-	-	-
59	-	-	-	-
60	-	-	-	-

Cuadro A16. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a la sexta semana de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	2758	2761	2682.2	-
2	2566	2679	2695.2	-
3	2728	2576	2660.2	-
4	2752	2548	2682.2	-
5	2577	2612	2626.2	-
6	2510	2504	2669.2	-
7	2354	2517	2688.2	-
8	2549	2560	2719.2	-
9	2393	2544	2631.2	-
10	2623	2567	2559.2	-
11	2732	2661	2658.2	-
12	2734	2754	2663.2	-
13	2528	2626	2691.2	-
14	2525	2714	2665.2	-
15	2597	2622	2695.2	-
16	2716	2728	2594.2	-
17	2758	2626	2649.2	-
18	2474	2621	2715.2	-

19	2704	2703	2706.2	-
20	2531	2659	2622.2	-
21	2288	2613	2721.2	-
22	2555	2729	2720.2	-
23	2503	2660	2714.2	-
24	2620	2688	2703.2	-
25	2672	2682	2773.2	-
26	2528	2611	2775.2	-
27	2824	2703	2761.2	-
28	2663	2467	2780.2	-
29	2612	2650	2630.2	-
30	2634	2632	2716.2	-
31	2413	2668	2572.2	-
32	2588	2644	2670.2	-
33	2645	2718	2704	-
34	2572	2652	2600	-
35	2714	2723	2622.2	-
36	2657	2672	2639.2	-
37	2638	2591	2716	-
38	2734	2656	2697	-
39	2626	2672	2621.2	-
40	2686	2485	2695	-
41	2615	2561	2641	-
42	2618	2651	2540	-
43	2652	2852	2625.2	-
44	2640	2894	-	-
45	2596	2614	-	-
46	2676	2575	-	-
47	-	2634	-	-
48	-	-	-	-
49	-	-	-	-
50	-	-	-	-
51	-	-	-	-
52	-	-	-	-
53	-	-	-	-
54	-	-	-	-
55	-	-	-	-
56	-	-	-	-
57	-	-	-	-
58	-	-	-	-
59	-	-	-	-
60	-	-	-	-

Cuadro A17. Peso corporal de cada ave por grupo experimental a los 45 días de edad.

Animales	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	2940	2920	2838.2	-
2	2748	2838	2851.2	-
3	2910	2735	2816.2	-
4	2934	2707	2838.2	-
5	2759	2771	2782.2	-
6	2692	2663	2825.2	-
7	2536	2676	2844.2	-
8	2731	2719	2875.2	-
9	2575	2703	2787.2	-
10	2805	2726	2715.2	-
11	2914	2820	2814.2	-
12	2916	2913	2819.2	-
13	2710	2785	2847.2	-
14	2707	2873	2821.2	-
15	2779	2781	2851.2	-
16	2898	2887	2750.2	-
17	2940	2785	2805.2	-
18	2656	2780	2871.2	-
19	2886	2862	2862.2	-
20	2713	2818	2778.2	-
21	2470	2772	2877.2	-
22	2737	2888	2876.2	-
23	2685	2819	2870.2	-
24	2802	2847	2859.2	-
25	2854	2841	2929.2	-
26	2710	2770	2931.2	-
27	3006	2862	2917.2	-
28	2845	2626	2936.2	-
29	2794	2809	2786.2	-
30	2816	2791	2872.2	-
31	2595	2827	2728.2	-
32	2770	2803	2826.2	-
33	2827	2897	2860	-
34	2754	2811	2756	-
35	2896	2882	2778.2	-
36	2839	2826	2795.2	-
37	2820	2750	2872	-
38	2916	2815	2853	-
39	2808	2831	2777.2	-
40	2864	2654	2851	-

41	2797	2720	2797	-
42	2800	2810	2696	-
43	2834	3011	2781.2	-
44	2818	3053	-	-
45	2778	2773	-	-
46	2858	2734	-	-
47	-	2793	-	-
48	-	-	-	-
49	-	-	-	-
50	-	-	-	-
51	-	-	-	-
52	-	-	-	-
53	-	-	-	-
54	-	-	-	-
55	-	-	-	-
56	-	-	-	-
57	-	-	-	-
58	-	-	-	-
59	-	-	-	-
60	-	-	-	-

Cuadro A18. Títulos de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle por grupo experimental a los 28 días de edad.

Animales	TÍTULO DE ANTICUERPOS 28 DÍAS			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	209	39	1	209
2	503	34	1	503
3	78	24	271	78
4	72	24	13	72
5	39	1	72	39
6	61	1	4	61
7	50	39	657	50
8	39	1	4	39
9	1	718	190	1
10	39	13	209	39
11	296	1	1	296
12	24	1	13	24
13	61	1	13	61
14	741	34	1	741
15	27	24	1	27

Cuadro A19. Títulos de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle por grupo experimental a los 45 días de edad.

Animales	TÍTULO DE ANTICUERPOS 45 DÍAS			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	6192	13659	7625	-
2	7485	12511	10008	-
3	10755	8381	12296	-
4	15112	9884	10277	-
5	10764	9972	6035	-
6	10639	11014	11552	-
7	5992	2501	11446	-
8	6715	5435	9800	-
9	7532	12626	4313	-
10	8034	8054	7708	-
11	7235	6578	12638	-
12	6385	8833	11466	-
13	3424	5755	11755	-
14	6928	9828	6559	-
15	5183	7040	8749	-

Cuadro A20. Mortalidad diaria Post-desafío por grupo experimental

Días Post-desafío	MORTALIDAD			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	17
5	1	3	4	27
6	4	4	5	7
7	2	3	3	3
8	2	0	2	0
9	0	0	0	1
10	1	0	0	0
11	0	0	0	0
12	0	1	0	0
13	1	0	1	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0
Total	11	11	15	55

Aves desafiadas	57	58	56	56
%	19.30%	18.97%	26.79%	98.21%

Cuadro A21. Animales deprimidos por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	DEPRESIÓN			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	10	4	3	14
3	11	5	4	37
4	23	8	6	33
5	24	17	8	7
6	12	15	16	4
7	7	8	9	2
8	4	4	8	2
9	3	3	4	1
10	3	2	4	0
11	3	3	5	0
12	4	5	5	0
13	5	5	4	0
14	5	5	4	0
15	4	4	3	0

Cuadro A22. Animales con casos de diarrea por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	DIARREAS			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	13	12	11	7
3	16	14	14	18
4	22	17	16	20
5	29	25	22	9
6	22	22	20	5
7	18	20	16	2
8	15	18	14	2
9	10	10	12	2
10	6	4	8	0
11	6	4	6	0
12	6	8	6	0

13	6	6	6	0
14	6	6	4	0
15	5	6	3	0

Cuadro A23. Animales con casos de edema facial por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	EDEMA FACIAL			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	13	9	10	22
3	15	9	12	41
4	18	10	8	36
5	14	6	7	8
6	8	4	4	2
7	3	2	4	0
8	2	1	3	0
9	0	0	0	0
10	0	0	0	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0

Cuadro A24. Animales con casos de ronqueras y estornudos por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	RONQUEURAS Y ESTORNUDOS			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	8	4	4	14
3	9	6	6	19
4	12	8	8	18
5	10	6	5	12
6	7	5	5	5
7	7	4	8	4
8	6	3	10	4
9	4	3	7	3
10	0	0	3	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0

13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0

Cuadro A25. Animales con secreción por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	SECRECIONES			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	6	5	4	9
3	8	6	6	13
4	12	8	6	28
5	8	5	4	8
6	4	3	4	2
7	2	2	4	1
8	2	0	3	1
9	0	0	2	0
10	0	0	0	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0

Cuadro A26. Animales con casos de parálisis por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	PARÁLISIS			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	2	1
7	2	2	2	2
8	2	2	2	0
9	1	1	0	0
10	1	1	0	0
11	1	1	0	0
12	1	0	0	0
13	0	0	0	0

14	0	0	0	0
15	0	0	0	0

Cuadro A27. Animales con casos de tics por día Post-desafío por grupo experimental

Días post desafío	TICS			
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	2	2	2	2
7	3	2	2	1
8	3	2	4	1
9	2	2	4	0
10	2	2	4	0
11	3	3	5	0
12	4	5	5	0
13	5	7	4	0
14	6	7	4	0
15	8	7	5	0