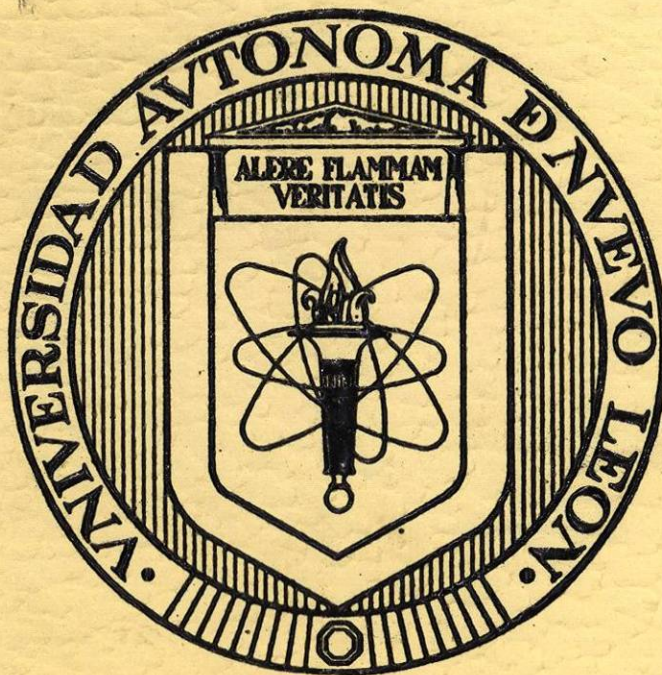


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TITULACION DE UNA VACUNA DE NEWCASTLE CEPA  
·LASOTA, EXPUESTA A DIFERENTES TEMPERATURAS

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

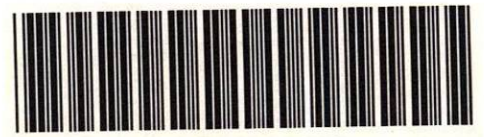
P r e s e n t a :

Ramón Luck Montero

Asesor: M.V.Z. Oscar Leal Perales



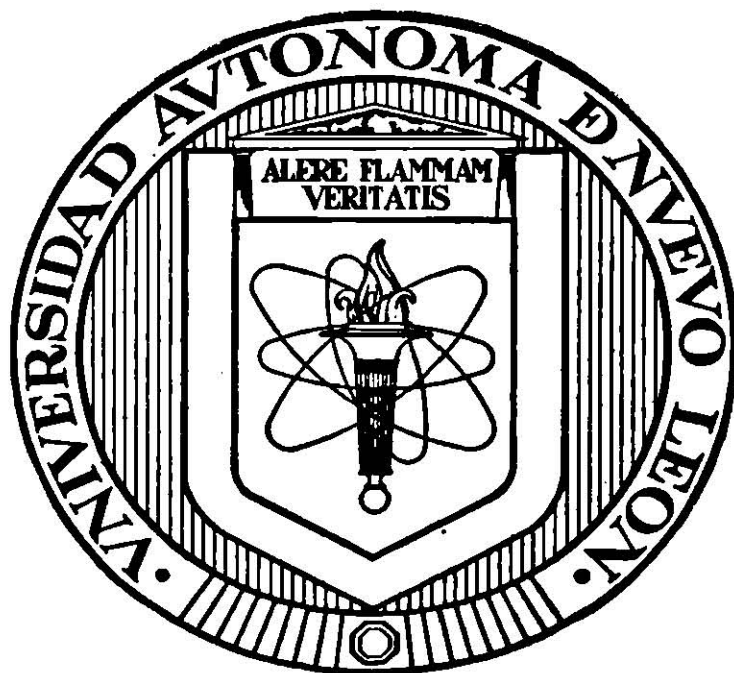
EMERY  
C



1080066770

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TITULACION DE UNA VACUNA DE NEWCASTLE CEPA  
LASOTA, EXPUESTA A DIFERENTES TEMPERATURAS

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Ramón Luck Montero

Asesor: M.V.Z. Oscar Leal Perales

T  
SE 95  
L 8



**A MI ASESOR:**

**M.V.Z. Oscar Leal Perales, con respeto  
y gratitud por su valiosa intervención  
y dirección en la realización de este  
trabajo.**

**Agradecimiento:**

**A la Dra. Herminia Martínez Rodríguez  
por su ayuda desinteresada.**

**Y con un gran reconocimiento a todos los:**

**Familiares,**

**Maestros y**

**Amigos**

**que colaboraron con mi superación.**

# C O N T E N I D O

	pág.
Lista de cuadros y figuras _____	v.
I. Introducción _____	1.
II. Antecedentes _____	5.
III. Materiales y Métodos _____	9.
3.1 Preparación de vacuna.....	9.
3.2 Dilución.....	9.
3.3 Inoculación en los embriones.....	10.
3.4 Incubación.....	10.
3.5 Preparación de glóbulos rojos.....	11.
3.6 Pruebas bacteriológicas realizadas en embri- nes muertos.....	11.
3.7 Cosecha.....	11.
3.8 Prueba de Hemaglutinación en Placa.....	12.
IV. Resultados _____	13.
V. Conclusiones _____	21.
VI. Bibliografía _____	23.

## L I S T A D E C U A D R O S Y F I G U R A S

Cuadro 1.	Relación de embriones vivos y muertos a través de la prueba.....	p. 14.
Cuadro 2.	Pruebas Bacteriológicas.....	p. 15.
Figura 1.	Muerte Embrionaria ( Muestra A ) .....	p. 16.
Figura 2.	Muerte Embrionaria ( Muestra B ) .....	p. 17.
Figura 3.	Muerte Embrionaria ( Muestra C ) .....	p. 18.
Figura 4.	Muerte Embrionaria ( Muestra D ) .....	p. 19.
Figura 5.	Títulos Hemaglutinantes de la cepa vacunal La-sota expuesta a diferentes temperaturas.....	p. 20.



Dentro del abasto para consumo humano, los productos avícolas seguirán jugando un papel muy importante debido básicamente a su bajo costo, su alta eficiencia y rapidez de ciclos reproductivos. La población aviar a finales de la presente década, será de 88 millones de aves de postura y 140 millones de pollos en rotación, siendo en la actualidad de 68.7 y 64 millones respectivamente. ( Paredes, F., 1982 ) Se estima que del 25 al 30% de la proteína de origen animal que se consume en México, es producida por aves. ( Cuca, G. M., 1980 ).

Se considera que la enfermedad de Newcastle es una de las más graves amenazas a la industria avícola mundial, por su evolución rápida en las parvadas, aunque se reporta que en Australia y Escandinavia no se ha observado. ( 22 )

Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en las zonas avícolas más densamente pobladas de México, como son Saltillo, Monterrey, Torreón, la región de los altos, Valle de México y Valle de Tehuacán. ( 24 )

A partir de 1969, el número de brotes de la mencionada enfermedad ha ido en aumento en el Valle de México y sus alrededores, presentándose en gran número de ellos en aves que han sido vacunadas. ( 20 )

El agente que produce el Newcastle es un virus de 100 a 200 nm. de diámetro, perteneciente a la familia Paramixoviridae, género Paramixovirus, especie de virus de la enfermedad de Newcastle, en base de que contiene RNA, tiene simetría helicoidal y está encapsulado. ( 15, 22 )

Su envoltura contiene hemaglutinina (glucoproteína) y proteína neuraminidásica; tiene por lo tanto actividad hemaglutinante. La hemaglutinina se fija al glóbulo rojo que posee receptores complementarios. El virus produce elución sobre el glóbulo rojo a 37°C, debido a la destrucción del ácido neuramínico en sus receptores por la neuraminidasa del virión, pero esto no ocurre a 4°C por merma de la actividad enzimática. El virus eluido puede aglutinar un eritrocito, pero este una vez eluido, ya no puede ser aglutinado por la misma especie de virus, debido a la pérdida de sus receptores. ( 1, 22 )

Las cepas de Newcastle se dividen arbitrariamente de acuerdo a su virulencia ( agresividad por el embrión ) en tres grupos:

I. Lentogénicas: 8<sub>1</sub>, Lasota, Clone 30. Producen muerte embrionaria en 90 horas o más. Se usan como vacuna para las aves por ser inócuas.

II. Mesogénicas: Roakin, MK, Jones. Producen muerte embrionaria en 48 a 52 horas. De uso poco común como vacuna por ser muy agresivas.

III. Velogénicas: Querétaro, Chimalhuacán, 6B, Texas, Iztapalapa. La muerte embrionaria la producen en 36 horas. No se usan como vacuna para las aves por su alta virulencia, producen la enfermedad. ( cepas de campo ) Las cepas velogénicas, también arbitrariamente se dividen en: Viscerotrópicas, neurotrópicas, neumotrópicas y pantotrópicas. ( 23, 24 )

Esta enfermedad es de carácter zoonótico, dado que el hombre contrae la misma, por contacto con aves de corral infectadas o productos de ellas en laboratorios, o en plantas de elaboración. Cause conjuntivitis en humanos, uni o bilate-

ral que puede durar de 3 a 7 días y una enfermedad leve parecida a la influenza, aunque también se ha descrito infección generalizada grave. ( 22, 27 )

Existen básicamente dos formas de prevenir y controlar la enfermedad: La primera, es evitar el contacto del ave con el virus, y la segunda, por medio de vacunaciones. Las vacunas que mejores resultados han dado, y más usadas en el país, son el virus vivo cepa Lasota y la vacuna emulsionada, administradas por el método simultáneo, es decir, ocular/subcutáneo, tanto en el pollo de engorda, como en gallina de postura comercial y reproductoras. ( 24 )

Entre los factores que contribuyen a la consecución de una adecuada inmunidad, capaz de resistir una cepa viral de campo estan: La cepa vacunal usada, su título, vía de inoculación y el manejo adecuado que se le dé a ésta. Además no debemos descartar otros factores relacionados con el huésped ( aves ), como son: La densidad de población, la alimentación, las condiciones higiénicas y los anticuerpos maternos. ( 1, 5, 23, 28 ).

En algunas ocasiones, se ha demostrado que el biológico mal manejado ( vacuna ), no confiere una inmunidad sólida, y a la presencia del virus de campo se desencadenan brotes con pérdidas cuantiosas. ( 2, 11, 15, 18, 19 )

Para medir la eficacia de las vacunas, se cuenta con varias pruebas, como son la de neutralización del virus, inhibición de la hemaglutinación y hemaglutinación en placa o en tubo, como lo señala Cunningham. ( 7 )

Para asegurar que la calidad de la vacuna de Newcastle, se mantenga durante el período de vigencia, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos recomienda someter la vacuna liofilizada a una temperatura de 37°C durante 7 días ( método de aceleración ), simulando en esta forma el efecto del almacenamiento entre 4° y 7°C a que una vacuna se ve sometida durante su vigencia. Si el título de la vacuna se ve reducido en más de 1.0 log. 10 en comparación con una vacuna no calentada se considera que la liofilización no fue adecuada y no se permite su venta. ( 20 )

La actividad biológica del virus de la enfermedad de Newcastle que ha sido considerada en el presente trabajo es la hemaglutinación.

El objetivo primordial que se persigue en este trabajo es el de evaluar el título viral que conserva la vacuna contra Newcastle, cepa comercial Lasota, expuesta previamente a temperaturas de 2°C, 15°C, 25°C y 40°C, considerando la respuesta de hemaglutinación en placa.

## II.

## A N T E C E D E N T E S

Giavarini ( 1971 ), conservando en frigorífico, previa liofilización, permanece vivo el virus de Newcastle, incluso un año, en cámaras refrigeradas conserva la vitalidad cerca de 6 meses. ( 13 )

Cosío ( 1972 ), estudiando el virus de Newcastle conservado en papel filtro a diferentes temperaturas, concluyó en que la conservación de la infecciosidad viral varió con la temperatura de almacenamiento y el secado. ( 4 )

La vida promedio de los virus, dice Fenner ( 1973 ) podría medirse en segundos a 60°C, en minutos a 37°C, en horas a 20°C, en días a 4°C y en meses a -70°C. ( 12 )

William y Howard nos informan que el calor a 60°C por 30 minutos inactiva el virus de Newcastle. ( 1973 ) ( 27 )

Según Merchant y Packer ( 1975 ), la mayoría de las cepas resisten durante 30 minutos a 56°C y ciertas cepas se ha comprobado que siguen siendo viables tras 180 minutos. El virus permanece vivo en las aves sacrificadas durante 300 días cuando se mantiene a -15.6°C. En materiales desecados de naturaleza variada y mantenidos a la temperatura de laboratorio, el virus vive durante 30 días, y si la temperatura desciende hasta la congelación, permanece vivo hasta un año. ( 21 )

Andrade De La Rosa ( 1977 ), dice que los efectos de variación en las temperaturas, son de importancia, pues ejercen influencias sobre títulos hemaglutinantes de virus vacunales. ( 2 )

Davis y col. (1977), nos reportan que el virus de Newcastle ha sobrevivido en tierra húmeda, durante 123 días entre 20°C y 30°C, 225 días a temperatura que osciló entre -11°C y 36°C, y 538 días entre 3°C y 6°C. ( 8 )

Erickson ( 1978 ), sometió al virus de la enfermedad de Newcastle, a condiciones de manejo a 26°C, con títulos de 8 a 0.35 log. ELD 50/ml. retuvieron un 88% de infectividad después de 3 días mantenidos en refrigerante común. Pero por 5 días en hielo seco retuvieron un 28% de infectividad. ( 10 )

Según Hofstad ( 1978 ), la actividad del virus de Newcastle, es destruída en un minuto a 100°C, a 56°C la destrucción de la infectividad, actividad hemaglutinante y la inmunogenicidad ocurre en períodos de 5 minutos a 6 horas. A 37°C, horas y días son requeridos para inducir estos cambios; a 20°C y 8°C, meses y años deben pasar antes de que pierda el virus toda reactividad. ( 16 )

Carpenter ( 1979 ), informa que muchas especies son inactivadas o muertas cuando los virus son expuestos a 53°C-56°C por 30 minutos. ( 3 )

Jawetz ( 1979 ), refiriéndose al calor y frío a que son sometidos los virus vacunales reporta, que éstos pueden ser preservados por almacenamiento a temperaturas de subcongelación, y algunos pueden resistir la liofilización y pueden por tanto ser conservados en estado seco a 4°C e incluso a la temperatura de laboratorio. ( 17 )

Dught ( 1980 ), nos dice que a las temperaturas



que existen en los gallineros, el virus de Newcastle se mantiene viable en el plumón de los pollos y vive poco tiempo en la incubadora en funcionamiento. ( 9 )

Lucio y Zavaleta ( 1980 ); la cantidad de virus administrado puede estar influenciada, a su vez, por la cantidad de virus vivo presente en la vacuna al terminar su elaboración y durante su almacenamiento o transporte en forma liofilizada. También puede haber inactivación del virus después de que el avicultor la haya restituido, reduciendo en consecuencia la cantidad de virus vivo que recibe el ave. ( 20 )

Steele ( 1981 ), en experimentos realizados con el virus de la enfermedad de Newcastle, nos informa que es relativamente estable a las condiciones ambientales. Bajo condiciones experimentales, puede sobrevivir a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta por 4 a 6 años, a  $5^{\circ}\text{C}$  hasta 203 días, y a  $25^{\circ}\text{C}$  por más de 95 días y a  $37^{\circ}\text{C}$  por 14 días. La inactivación puede ocurrir a  $45^{\circ}\text{C}$  en menos de 90 horas, a  $56^{\circ}\text{C}$  en menos de 180 minutos y a  $60^{\circ}\text{C}$  en menos de 5 minutos. El virus quedó viable en plumón de pollo por 255 días. Puede quedar viable en tela de cáñamo, yute o lino por 20 a 180 días. En tierra ( estiércol ), sobrevive con una variedad de 8 a 22 días, dependiendo de la temperatura y condiciones de suciedad. ( 26 )

Aguilera y Ortega ( 1983 ), en relación al período de supervivencia del virus, nos dicen que es menor conforme aumentan las temperaturas y casi todas las variedades quedan totalmente inactivadas al cabo de 30 minutos de incubación a  $50^{\circ}\text{C}$ . ( 1 )

Mohanty y Dutta ( 1983 ), afirman que el virus de Newcastle sobrevive durante 30 minutos a 56°C, y conserva su capacidad infectante a 4°C en tejidos o heces durante meses; aglutina y adsorbe una amplia variedad de eritrocitos avia- rios y de mamíferos. ( 22 )

### III.

### M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, iniciándose en el mes de febrero de 1984.

La vacuna de Newcastle evaluada, fue adquirida en un establecimiento proveedor de productos veterinarios de la ciudad de Monterrey.

Se utilizaron un total de 120 embriones de pollo de 10 días de edad, procedentes de una casa comercial de reproductoras.

**3.1 PREPARACION DE VACUNA:** Se tomó una vacuna contra la enfermedad de Newcastle, cepa Lasota de 1000 dosis, que se restituyó según las indicaciones del fabricante. Se dividió en cuatro tubos diferentes, que se identificaron como muestra A, B, C y D. La muestra A fue el testigo, el cual, se incubó a 2°C y los restantes se sometieron a 15°C (B), 25°C (C) y 40°C (D) durante 30 minutos cada uno, utilizándose para tal efecto, inmersión en agua a las temperaturas mencionadas.

**3.2 DILUCION:** Para cada muestra ( A, B, C y D ), se utilizaron 10 tubos de ensaye ( 12 x 75 mm. ) a los que se les agregó 4.5 ml. de S.S.F. ( Solución salina fisiológica estéril ), adicionándole a ésta, penicilina ( 1000000 U.I. ) y estreptomina ( 10 g. ), por cada 100 ml. de solución. Se identificaron los tubos como  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ , etc., hasta  $10^{10}$ . De la muestra A se extrajo 0.5 ml. del virus vacunal con una pipeta estéril y se le agregó al primer tubo identificado como  $10^1$ . Se evitó tocar la solución con la pipeta. Se agitó la mezcla

durante 30 segundos. Con una pipeta estéril se pasó 0.5 ml. del tubo  $10^1$  al tubo  $10^2$  sin tocar la solución con la pipeta y se agitó durante 30 segundos. Se repitió este proceso hasta llegar al último tubo, es decir, hasta el identificado como  $10^{10}$ . Para las muestras B, C y D, se siguió el mismo procedimiento.

**3.3 INOCULACION EN LOS EMBRIONES:** Se inocularon 120 huevos embrionados de 10 días de edad, vía membrana corioalantoidea, previamente revisados al ovoscopio, escogiendo un lugar en el que no existiese irrigación sanguínea, con el objeto de evitar muerte embrionaria por hemorragia. Se marcó el lugar que posteriormente se desinfectó con solución alcohólica yodada; se hicieron dos perforaciones: La primera, en la cámara de aire y la segunda en el lugar de la inoculación. ( La primera perforación se hizo con el propósito de que al realizar la inoculación en membrana corioalantoidea, no escapara el inóculo ). Se inoculó 0.1 ml. de virus vecunal diluído por embrión. Se sellaron ambas perforaciones con parafina, teniendo el cuidado de sellar primero donde se inoculó y después en la cámara de aire. Se utilizaron 5 embriones que se inocularon con 0.1 ml. de las diluciones indicadas para cada muestra:

- Muestra A: De las diluciones  $10^5$  hasta  $10^{10}$
- Muestra B: De las diluciones  $10^4$  hasta  $10^9$
- Muestra C: De las diluciones  $10^3$  hasta  $10^8$
- Muestra D: De las diluciones  $10^1$  hasta  $10^6$

**3.4 INCUBACION:** Los embriones inoculados se incubaron a 37°C en una incubadora con una humedad relativa del 60%. Se examinaron diariamente, con ayuda del ovoscopio, anotando la fecha y el número de los muertos, devolviendo a la incubadora

los que permanecían vivos. A los embriones muertos se les hicieron pruebas para determinar contaminación bacteriológica y pruebas de hemaglutinación.

**3.5 PREPARACION DE GLOBULOS ROJOS:** Los glóbulos rojos de ave, se obtuvieron por punción cardiaca de una gallina, no inmunizada, recolectándose la sangre en citrato de sodio al 0.5%. Se centrifugó a 1500 rpm. durante 8 minutos, desechándose el sobrenadante. Se agregó S.S.F. y se centrifugó nuevamente, repitiéndose la operación anterior por tres ocasiones. El sobrenadante de la última centrifugación se eliminó y el sedimento se utilizó para preparar el paquete de glóbulos rojos al 0.5% y al 2%.

**3.6 PRUEBA BACTERIOLOGICA REALIZADA EN EMBRIONES MUERTOS:** Se tomó cuidadosamente y en condiciones asépticas, una muestra de la membrana corioalantoidea con un asa metálica (trabajando cerca del mechero), se abrió la caja de petri conteniendo el medio de cultivo y se sembró en estrías en la superficie del medio. Se incubaron a 37°C, observándose a las 24 y 48 horas siguientes. Los medios de cultivo sembrados fueron:

- Agar Verde Brillante.
- Agar Sangre.
- Agar Dextrose-Sabouraud.

**3.7 COSECHA:** Al 5º día se sacrificaron los embriones por congelación a -20°C por 25 minutos. Una vez sacrificados, con unas tijeras se abrió el embrión en el área ocupada por la cámara de aire. Después se extrajo líquido amnióticoalantoideo con una jeringa tipo tuberculina.

3.8 PRUEBA DE HEMAGLUTINACION EN PLACA: Del fluido amnióticoalantoideo cosechado, con la jeringa tipo tuberculina se depositó una gota en la placa de hemaglutinación. Sobre la misma gota, se agregó con una jeringa tipo tuberculina, una gota de glóbulos rojos lavados al 2%. Con un agitador se mezclaron ambas gotas y se incubaron por 15 minutos a temperatura ambiente ( 28°C ). El mismo procedimiento se siguió al utilizar glóbulos rojo al 0.5%. Una reacción positiva de hemaglutinación completa era indicada por una capa delgada y difusa de grumos de glóbulos rojos aglutinados. Una reacción negativa de hemaglutinación era indicada por un compacto depósito de glóbulos rojos en el fondo de la placa.

Los títulos hemaglutinantes se obtuvieron basándose en la dilución más alta de virus que causó hemaglutinación.



Los embriones que murieron a través de la prueba, están anotados en el cuadro N° 1. El intervalo entre observaciones de los embriones al ovoscopio, fue de 24 horas. El 0º indica el día en que se efectuaron las inoculaciones.

Las pruebas bacteriológicas realizadas a los embriones muertos, se aprecian en el cuadro N° 2, resultando negativas.

No se observó hemaglutinación positiva, en los embriones muertos durante el período de incubación. En las figuras N° 1, N° 2, N° 3 y N° 4, están anotadas las diluciones de las diferentes muestras ( A, B, C y D ), en que murieron los embriones.

Los resultados de hemaglutinación en embriones que sobrevivieron hasta el final de la prueba, están anotados en la figura N° 5, en donde se observa los títulos obtenidos para cada temperatura.

Cuadro 1. RELACION DE EMBRIONES VIVOS Y MUERTOS  
A TRAVES DE LA PRUEBA.

Muestra A						
	diluciones					
día	$10^5$	$10^6$	$10^7$	$10^8$	$10^9$	$10^{10}$
0º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
1º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2º	0/5	1/4	1/4	1/4	1/4	0/5
3º	0/5	0/4	1/3	0/4	0/4	0/5
4º	0/5	0/4	0/3	1/3	0/4	1/4
Muestra B						
	diluciones					
día	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$	$10^8$	$10^9$
0º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
1º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/4
2º	0/5	0/5	1/4	0/5	0/5	0/4
3º	0/5	0/5	0/4	0/5	0/5	0/4
4º	0/5	0/5	0/4	0/5	0/5	0/4
Muestra C						
	diluciones					
día	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$	$10^8$
0º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
1º	0/5	0/5	1/4	0/5	0/5	1/4
2º	0/5	0/5	0/4	0/5	0/5	0/4
3º	0/5	0/5	0/4	0/5	0/5	0/4
4º	1/4	0/5	0/4	0/5	0/5	0/4
Muestra D						
	diluciones					
día	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
0º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
1º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/4
3º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4
4º	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4

Cuadro 2. PRUEBAS BACTERIOLOGICAS.

Medios de Cultivo	24 horas Nº colonias	48 horas Nº colonias	72 horas Nº colonias	96 horas Nº colonias
Agar Verde Brillante	0	0	0	0
Agar Sangre	0	0	0	0
Agar Dextrosa- Sabouraud	0	0	0	0

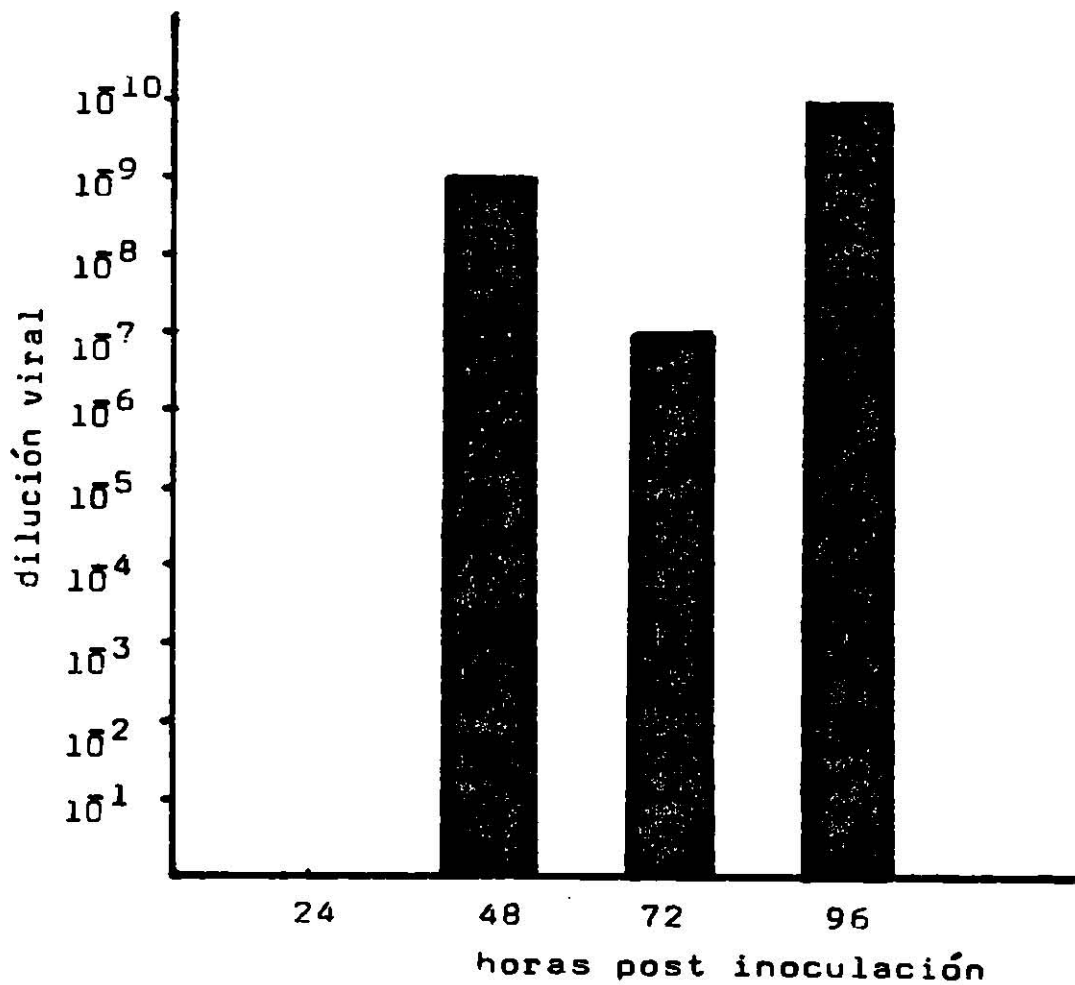


Fig. 1. MUERTE EMPIONARIA. ( MUESTRA A )

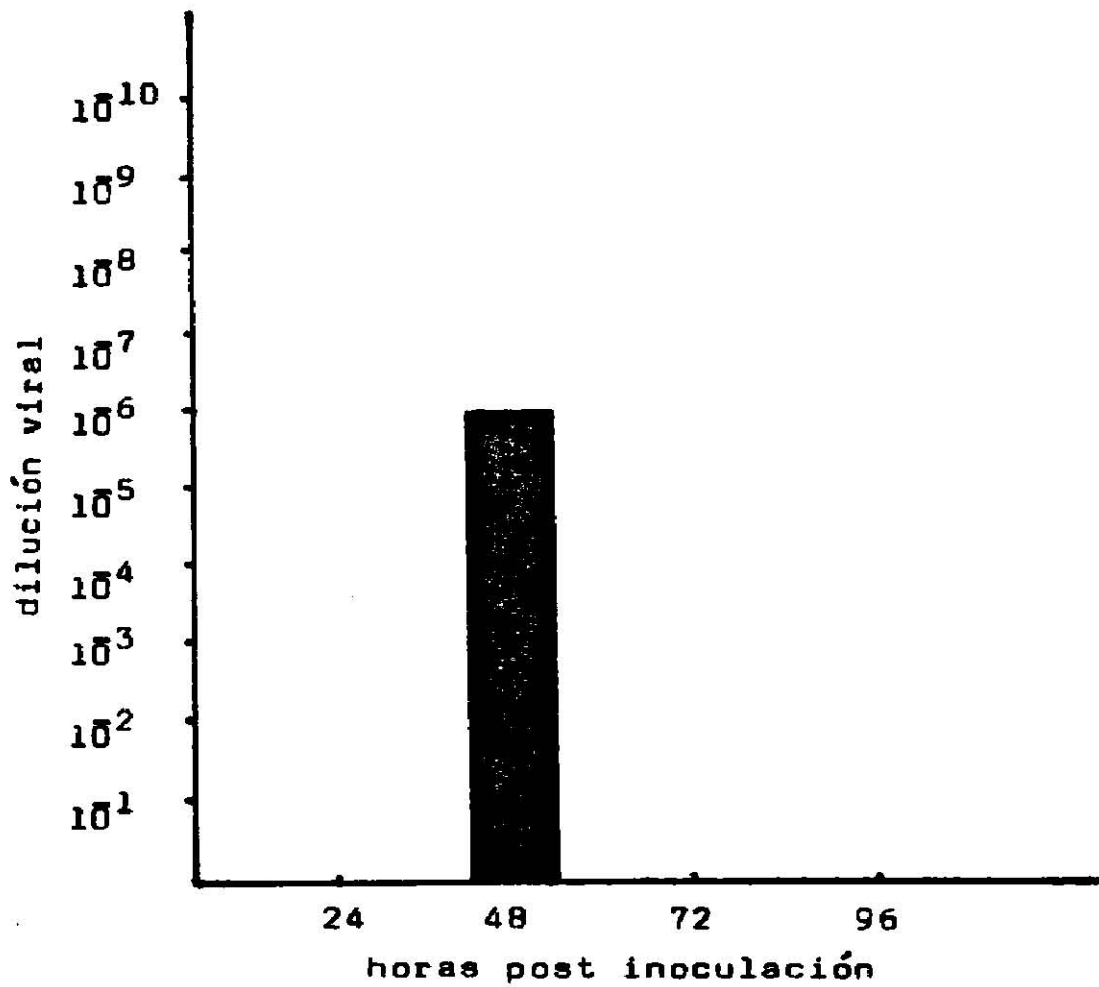


Fig. 2. MUERTE EMBRIONARIA. ( MUESTRA B )

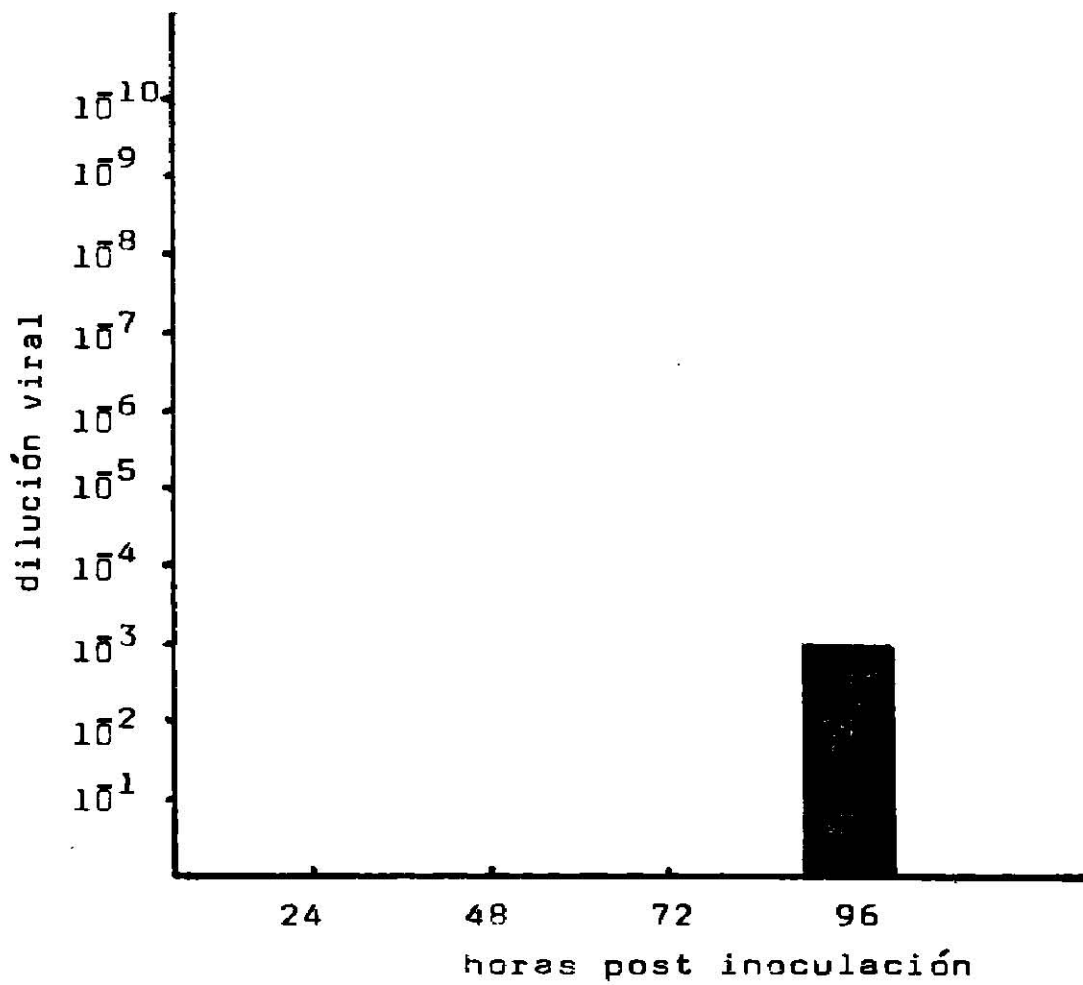


Fig. 3. MUERTE EMBRIONARIA. ( MUESTRA C )



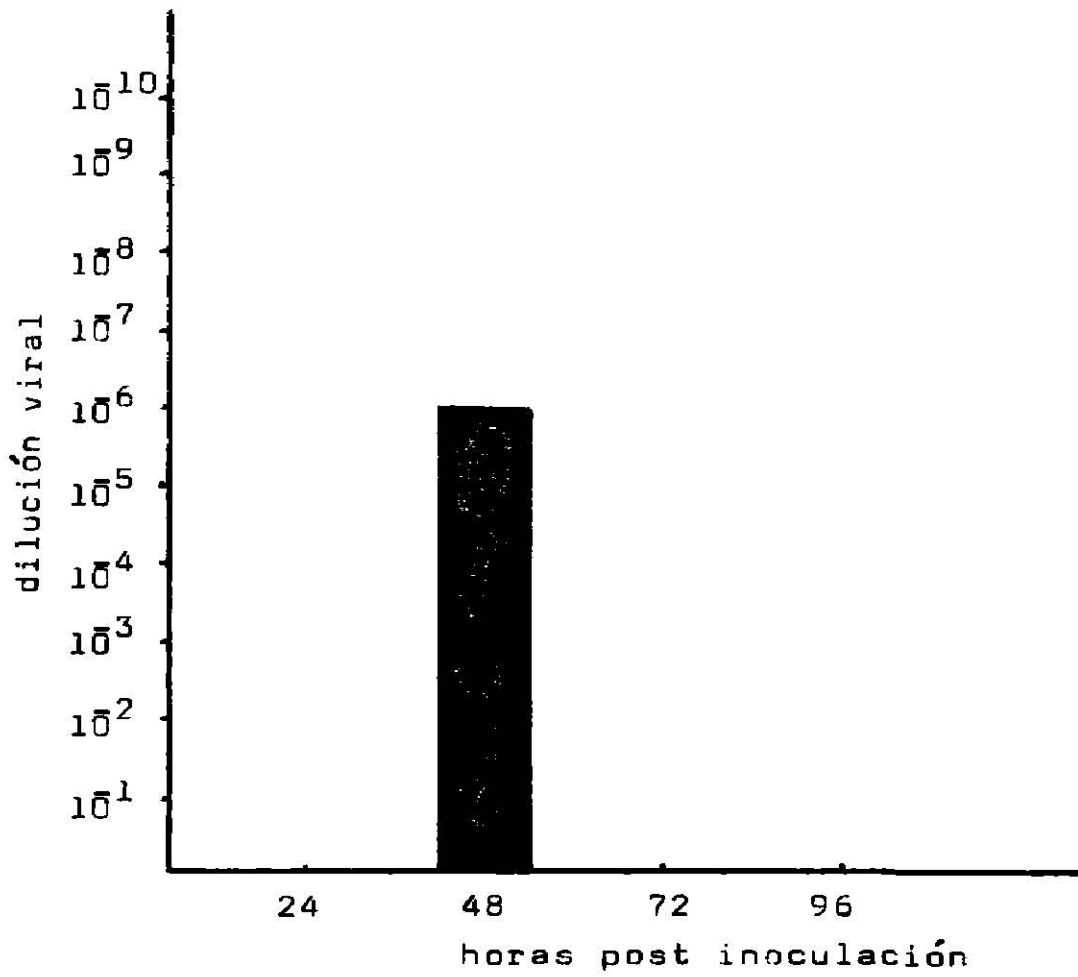


Fig. 4. MUERTE EMBRIONARIA. ( MUESTRA D )

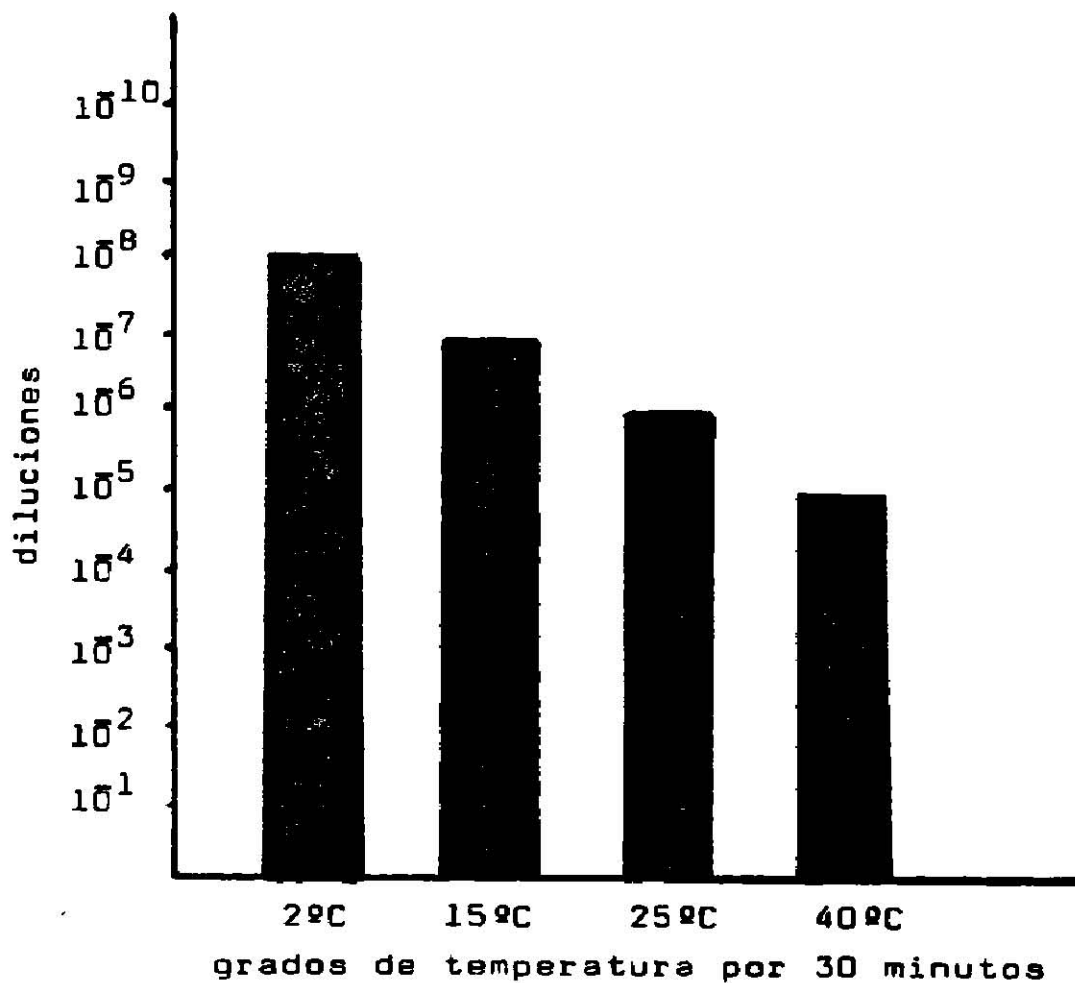


Fig. 5. TITULOS HEMAGLUTINANTES DE LA CEPA VACUNAL LASOTA EXPUESTA A DIFERENTES TEMPERATURAS.

## C O N C L U S I O N E S

El efecto de las diferentes temperaturas a que fue sometido el virus vacunal estuvo evidente por los títulos hemaglutinantes observados.

Se concluye, que a mayor temperatura, los títulos hemaglutinantes de la cepa vacunal tienden a ser más bajos, mientras que a temperaturas bajas, los títulos hemaglutinantes de la cepa vacunal se mantienen constantes.

A pesar de que fueron 30 minutos, los datos para cada temperatura a que fue expuesto el virus vacunal, hubo hemaglutinación a las 96 horas post inoculación.

Con las pruebas bacteriológicas realizadas a los embriones que sucumbieron a través de la prueba, se descartó contaminación secundaria, y probablemente la muerte se produjo por trauma de la inoculación.

La razón por la que se escogieron los medios de cultivo bacteriológicos fue que son los más frecuentemente usados para demostrar contaminantes.

Se utilizaron glóbulos rojos de ave al 2%, ya que, a esta concentración las reacciones se apreciaron con una mayor nitidez, pues, a la concentración del 0.5%, los resultados observados aparecieron dudosos.

Si se realizaran con más frecuencia, pruebas para mostrar la importancia de las temperaturas en que son conservadas las vacunas comerciales, lo más probable es que disminuiría el número de brotes de esta enfermedad en nuestras granjas avícolas.

Con las temperaturas utilizadas, simulando el mal manejo a que es sometido el biológico, queda una vez más demostrado, que si se mejorara esta situación, recalcando su importancia, nuestras parvadas gozarían de una mejor salud, que repercutiría sobre el porcentaje de huevos producidos y carne para la alimentación de nuestra sociedad.

1. Aguilera, M. G. y Ortega, J.: "Titulación de anticuerpos y su duración contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorda vacunados por diversas vías utilizadas en México". Avirama. Año III, Vol. 3, N°36. México, D.F. (1983) p. 5-8.
2. Andrade De La Rosa, F. J.: Títulos Hemoaglutinantes de la Cepa vacunal B<sub>1</sub> de la enfermedad de Newcastle en líquidos alantoideos de embriones de pollo incubados a 35°C y 37°C. Tesis Licenciatura. F.M.V.Z. UNAM (1977) p. 1-6.
3. Carpenter, P. L.: Microbiología. IV Edición. Editorial Interamericana. México, D.F. (1979) p. 147.
4. Cosío Tamariz, L.: "Conservación del virus de la enfermedad de Newcastle en papel filtro a diferentes temperaturas". Revista Veterinaria de la F.M.V.Z. UNAM Vol. III, N°1 Enero-Marzo (1972) p. 7.
5. Cruz Coy, J. S.: Contribución al estudio inmunogénico de las vacunas de la enfermedad de Newcastle aplicadas por la vía intramuscular virus vivo Cepa Lasota. Tesis Licenciatura. F.M.V.Z. UNAM, México, D.F. (1981) p. 2.
6. Cuca, G. M.: Semblanzas y perspectivas de la Avicultura en México. V Ciclo Internacional de Conferencias sobre Avicultura. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. (1980) p. 1-5.

7. Cunningham, C. H.: Virología Práctica. III Edición, Editorial Acribia. Zaragoza, España. (1971) p. 123-124-133-134-135.
8. Davis y otros: Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de las Aves silvestres. I Edición. Editorial Acribia, Zaragoza, España. (1977) p. 7.
9. Dwight Schwartz, L.: Manual de Sanidad Avícola. I Edición. UTEHA. México, D.F. (1980) p. 30.
10. Erickson, G. A.: "21st Annual Proceedings". American Association Veterinary Laboratory Diagnosticians. (1978) p. 309-318.
11. Escamilla Arce, L.: Manual Práctico de Avicultura Moderna. I Edición. Editorial Continental. México (1981) p. 171.
12. Fenner, F. J.: Virología Médica. Editorial Fournier México (1973) p. 11.
13. Giavarini, I.: Tratado de Avicultura. Ediciones Omega. Barcelona, España. (1971) p. 283.
14. Gordon, B. L.: Lo esencial de la Inmunología. II Edición. Editorial El Manual Moderno. (1975) p. 60-61.
15. Gordon, R. F.: Enfermedades de las Aves. I Edición Editorial El Manual Moderno. México (1980) p. 91-92.



16. Hofstad, M. S.: Diseases of Poultry. 7ª Edition ( 1978 )  
Iowa State University Press. p. 626.
17. Jawetz, E.: Manual de Microbiología Médica. 8ª Edición.  
Editorial El Manual Moderno. México. ( 1979 ) p. 356-  
398-399-402-403.
18. Libby, J. A.: Higiene de la Carne. II Edición. Editorial  
Continental. México ( 1981 ) p. 77-188.
19. Lozano, D. B.: "Evaluación serológica de dos sistemas de  
vacunación contra la enfermedad de Newcastle en pollos  
de engorda-Sistema virus vivo vs. Sistema simultáneo.  
VIII Convención ANECA. Ixtapazihuatanejo, México ( 1983 )  
p. 319.
20. Lucio, B. y Zavaleta, D.: "Estabilidad de las vacunas a  
virus vivo contra la enfermedad de Newcastle elaboradas  
en México". Avirama. Año 2, Vol. II, Nº 15. México, D.F.  
p. 4-6.
21. Merchant, I. A. y Packer, R. A.: Bacteriología y Virolo-  
gía Veterinaria. III Edición. Editorial Acribia. Zara-  
goza, España. ( 1975 ) p. 79-81-695.
22. Mohanty, S. B. y Dutta, S. K.: Virología Veterinaria. I  
Edición. Editorial Interamericana. México. ( 1983 ) p. 9-  
294-385.
23. North, M. O.: Manual de Producción Avícola. II Edición.  
Editorial El Manual Moderno. México ( 1982 ) p. 715-716-  
717-718-719.

24. Padrón, M. E.: "Comportamiento de la vacuna emulsionada Pfizer en el campo". Boletín Informativo de Laboratorios Pfizer. México (1982).
25. Faredes, F.: Composición de la Avicultura Mexicana. VI Ciclo Internacional de Conferencias sobre Avicultura. Colegio de Postgraduados, Chapingo. México. (1982) p. 7-14.
26. Steele, J. H.: Handbook series in Zoonoses. Section B Viral Zoonoses. Vol. II CRC Press, Inc Boca Raton Florida, U. S. (1981) p. 267.
27. William Bruner, D. and Howard Gillespie, J.: Hagan's Infectious Diseases of domestic animals. 6<sup>th</sup> Edition Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. USA (1973) p. 1066-1067-1070.
28. Winterfield, R. W.: "Reacciones a vacunas...Tolerables o intolerables". Industria Avícola. Vol. 28. Nº4. Watt Publishing Co. Mount Morris. Illinois, E.U.A. (1981) p. 8.

