

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

“COMPARACIÓN DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN SUERO SANGUÍNEO VERSUS YEMA DE HUEVO, A TRAVÉS DE LA PRUEBA INHIBICIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN, EN GALLINAS DE POSTURA COMERCIAL. FINCA SAN JULIÁN, MUNICIPIO DE PATULUL, DEPARTAMENTO DE SUCHITEPÉQUEZ. ”

TRABAJO DE TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR


RODERICO DAVID HERNÁNDEZ CHEA

Al conferírsele el Grado Académico de

Médico Veterinario

Guatemala mayo de 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or religious figure, surrounded by various symbols including a crown, a cross, and a lion. The text around the border of the seal reads "UNIVERSITAS CAROLINA ACACIENSIS" at the top and "CETITIA CRIS CONSPICUA CAROLINA ACACIENSIS" at the bottom. The central figure is set against a blue background with a green landscape below.

“COMPARACIÓN DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN SUERO SANGUÍNEO VERSUS YEMA DE HUEVO, A TRAVÉS DE LA PRUEBA INHIBICIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN, EN GALLINAS DE POSTURA COMERCIAL. FINCA SAN JULIÁN, MUNICIPIO DE PATULUL, DEPARTAMENTO DE SUCHITEPÉQUEZ. ”

RODERICO DAVID HERNÁNDEZ CHEA

Médico Veterinario

GUATEMALA, MAYO DE 2011

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO:	Med. Vet. Leónidas Ávila Palma
SECRETARIO:	Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I:	Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	Mag. Sc. Med. Vet. Dennis Guerra Centeno
VOCAL III:	Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV:	P.A. Set Levi Samayoa López
VOCAL V:	Br. Luis Alberto Villeda Lanuza

ASESORES

Med. Vet. Lucrecia Motta
Med. Vet. Beatriz Santizo
Med. Vet. Jaime Méndez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

**En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la
Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su
Consideración el trabajo de graduación titulado:**

**“COMPARACIÓN DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA LA
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE, EN SUERO SANGUÍNEO VERSUS YEMA DE
HUEVO, A TRÁVES DE LA PRUEBA INHIBICIÓN DE LA
HEMOAGLUTINACIÓN, EN GALLINAS DE POSTURA COMERCIAL, FINCA
SAN JULIÁN, MUNICIPIO DE PATULUL, DEPARTAMENTO DE
SUCHITEPÉQUEZ.”**

**Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootecnia.**

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

ÍNDICE GENERAL

	<i>Página</i>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
3.1 General	3
3.2 Específicos	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 Enfermedad de Newcastle	4
4.1.1 Clasificación del virus ENC	5
4.1.2 Etiología	5
4.1.3 Características Físico Químicas	5
4.1.4 Epidemiología	6
4.1.4.1 Huéspedes	6
4.1.4.2 Transmisión	6
4.1.4.3 Fuentes del virus	7
4.1.5 Clasificación según su patogenicidad	7
4.1.6 Diagnóstico	8
4.1.6.1 Diagnóstico clínico	8
4.1.6.2 Lesiones	9
4.1.6.3 Diagnóstico diferencial	10

4.1.6.4	Diagnóstico de laboratorio	10
4.1.6.5	Pruebas serológicas	11
4.1.7	Prevención	11
4.2	Sistema inmunológico de las aves	12
4.2.1	Timo	12
4.2.2	Bolsa de Fabricio	13
4.2.3	Medula ósea	13
4.2.4	Bazo	14
4.2.5	Glándula de Harder	14
4.2.6	Sistema inmunológico adquirido	15
4.3	Inmunoglobulinas	16
4.3.2	Inmunoglobulina Y (IgY)	18
4.3.3	Inmunidad Neonatal	19
4.3.4	Transferencia de la IgY a la yema de huevo	20
4.4	Prueba serológica de inhibición de Hemoaglutinación	21
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1	Recursos humanos	22
5.2	Recursos Institucionales	22
5.3	Recursos biológicos	22
5.4	Material de campo	23
5.5	Material y equipo de laboratorio	23-24
5.6	Material de escritorio	24
5.7	Área de estudio	25
5.8	Diseño de estudio	25

5.9	Colecta de huevo para la obtención de yemas	25
5.10	Muestreo serológico	26
5.11	Realización de la prueba HI	26
5.12	Procesamiento de las muestras	26
5.13	Para las muestras de yema de huevo	27
5.14	Análisis estadístico	27
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28-33
VII.	CONCLUSIONES	35
VIII.	RECOMENDACIONES	36
IX.	RESUMEN	37
X.	BIBLIOGRAFÍA	38-40

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	<i>Página</i>
Gráfica 1	34

ÍNDICE DE TABLAS

	<i>Página</i>
Tabla 1	17
Tabla 2	28

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Newcastle es una enfermedad infectocontagiosa que causa grandes pérdidas económicas en la industria avícola, en las gallinas ponedoras dependiendo del patotipo viral que afecte se manifiesta desde alta mortalidad hasta el cese de la postura. Esta enfermedad afecta varias especies de aves tanto domésticas como silvestres. Debido a que es una enfermedad viral no tiene cura, se debe de hacer énfasis en prevención, diagnóstico y control. Para la prevención y control de esta enfermedad es importante que las aves que manifiesten enfermedad estén preparadas inmunológicamente y presenten suficientes anticuerpos para poder neutralizar la enfermedad. Por ello es importante que exista un buen traspaso de anticuerpos maternos hacia la descendencia. Los anticuerpos maternos (IgY) son las inmunoglobulinas que se encuentran en la yema de huevo y a través de esta son transferidas al embrión, estas inmunoglobulinas son las más importantes en el suero sanguíneo. Debido al mecanismo de transporte a los embriones de las IgY, se sabe que estas son las principales inmunoglobulinas de la yema de huevo y tan solo se encuentran trazas de las demás (IgM, IgA).

Debido a estas razones, los niveles de anticuerpos en suero sanguíneo y en yema de huevo son similares, esto permite que se puedan extraer anticuerpos de la yema de huevo y se empleen de la misma forma y para los mismos usos que los anticuerpos en el suero sanguíneo. La evaluación de la inmunidad contra la enfermedad de Newcastle en aves se realiza a través de la extracción de sangre para obtener los anticuerpos, estos monitoreos serológicos podrían también realizarse con el uso de yema de huevo. Este estudio pretende principalmente comparar los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, presentes en suero sanguíneo y yema de huevo, en Finca San Julián, municipio de Patulul, departamento de Suchitepéquez. Para la realización de este estudio se utilizó la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI).

I. HIPÓTESIS:

Existe relación entre los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, encontrados en el suero y en la yema de huevo en gallinas de postura comercial.

II. OBJETIVOS

3.1 General

Generar información sobre la relación de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, entre suero sanguíneo y yema de huevo por medio de la prueba inhibición de hemoaglutinación, en aves de postura comercial.

3.2 Específicos

Evaluar los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle mediante la prueba de inhibición de hemoaglutinación, en aves de postura comercial a través de la utilización de suero sanguíneo y yema de huevo.

Comparar los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo y yema de huevo, mediante la prueba de inhibición de hemoaglutinación.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

La enfermedad de Newcastle se reconoció por primera vez como entidad nosológica de las gallinas en 1926, después de las epidemias que se presentaron en Java (1926), Inglaterra (1927) y en Corea (1929). De los años 1926 a 1940, casi todos los casos graves de la enfermedad fueron destacados en o cerca de los puertos marinos en el océano Índico. Es muy probable que el virus de la enfermedad de Newcastle (VENC) afectara primero aves en la selva tropical húmeda del sureste de Asia. Una vez que se estableció en las aves, su difusión mundial se facilitó, probablemente, por el transporte refrigerado de carne que en ese entonces era común. La epizootia descrita por Doyle en 1926, se propagó a lo largo de la costa de Inglaterra alrededor de Newcastle, de donde deriva su nombre. (Moreno, 1994).

El virus que causa la enfermedad de Newcastle o Neumoencefalitis aviar, es un miembro de la familia Paramixoviridae, el cual está integrado por 9 grupos de virus que son serológicamente distintos y que además tienen diferentes hospederos primarios. Los 9 grupos se designan como Paramixovirus 1 (pmv-1) que el virus de la ENC considerado como el prototipo del género, Paramixovirus 2 (PMV-2) hasta el Paramixovirus 9 (PMV-9). (Moreno, 1994).

Es un virus pleomórfico de 100 a 300 nanómetros de diámetro, el genoma es de cadena simple RNA con 16,000 nucleótidos. Posee 2 proteínas hemaglutinina y neuraminidasa (HN). La hemaglutinina permite que el virus se ligue a la membrana de la célula hospedera y permite también, la serotipificación del virus. La neuraminidasa está involucrada en la liberación del virus desde la membrana de la célula hospedera. (Hartshon, 2007).

La proteína fusionada del virus es la que permite la fusión de la envoltura viral hacia la membrana de la célula, así es como el genoma viral puede entrar a la célula. (Hartshon, 2007).

4.1.1 CLASIFICACIÓN DEL VIRUS NEWCASTLE:

Grupo: V, virus ARN monocatenario negativo.

Orden: Mononegavirales

Familia: Paramyxoviridae

Género: Avulavirus

Especie: Newcastle virus (NDV).

(Viralzone, 2009)

4.1.2 ETIOLOGÍA

Paramyxovirus aviar, tipo 1. (OIE, 2009; Murphy, 2002)

4.1.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS:

Temperatura: Inactivado a 56°C/3 horas, 60°C/30 min

pH: Inactivado a pH ácido

Productos químicos: Sensible al éter

Desinfectantes: Inactivado por formalina y fenol

Supervivencia: Sobrevive durante largos períodos a temperatura ambiente, especialmente en las heces. (OIE, 2009; Murphy, 2002)

4.1.4. EPIDEMIOLOGÍA

4.1.4.1 HUÉSPEDES

Se ha informado que más de 200 especies de aves son susceptibles a infecciones naturales o experimentales con NDV (Newcastle Disease Virus) y parece probable que muchas más sean por completo susceptibles. Existen pruebas de que las cepas de NDV infectan a las especies de aves domésticas mayores, como menores, aunque algunas, como los patos y gansos, tienden a mostrar pocos signos de la enfermedad incluso cuando se infectan con las cepas de NDV más virulentas para pollos. Algunas consideraciones a tomar de los huéspedes del virus NDV son:

(Jordan, 1998)

- Afecta gran variedad de especies de aves tanto domésticas como salvajes
- Los índices de mortalidad y de morbilidad varían según las especies y en función de la cepa viral
- Las gallinas son las aves de corral más susceptibles, los patos y los gansos son las menos susceptibles
- Puede existir un estado portador en aves psitácidas y en algunas otras aves silvestres. (OIE, 2009)

4.1.4.2 Transmisión

El virus de Newcastle es altamente contagioso. La infección ocurre por inhalación del virus en forma de aerosol, ingestión de alimento contaminado o cama. Su dispersión con el aire puede abarcar distancias de hasta 5 km. El contacto directo o indirecto con material contaminado (fómites) es asociado a deficiencias de bioseguridad. (Shane, 2005)

- Contacto directo con las secreciones de las aves infectadas, especialmente las heces
- Comida , agua, instrumentos, locales, vestimentas humanas, etc., contaminados (OIE, 2009)

4.1.4.3 Fuentes de virus

- Secreciones respiratorias, heces
- Todas las partes de las aves muertas
- El virus es transmitido durante el período de incubación y por un período limitado durante la convalecencia.
- Se ha demostrado que algunos psitácidos transmiten durante más de un año el virus de la enfermedad de Newcastle de manera intermitente (OIE, 2009)

4.1.5 CLASIFICACIÓN SEGÚN SU PATOGENICIDAD

Una característica evidente de las cepas y el aislamiento de NDV es su capacidad para causar gran cantidad de distintos signos y gravedad de la enfermedad, incluso en los mismos huéspedes. Los NDV se han clasificado en cinco patotipos, con base en la enfermedad producida en pollos en condiciones de laboratorio:

- 1) NDV velogénicos viscerotrópicos, causan una forma muy virulenta de la enfermedad en la cual las lesiones hemorrágicas en el aparato intestinal son típicas.
- 2) NDV velogénicos neurotrópicos, causan elevada mortalidad después de signos respiratorios nerviosos.
- 3) NDV mesogénicos causan signos respiratorios y, algunas veces, nerviosos con baja mortalidad.
- 4) NDV respiratorios lentogénicos, causan infección entérica inaparente.
- 5) NDV entéricos asintomáticos, causan infección entérica inaparente. (Jordan, 1998).

4.1.6 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se puede realizar por aislamiento viral en cultivos celulares, las cepas del virus de Newcastle pueden ser replicadas en una variedad de cultivos celulares de origen aviar y no aviar, sin embargo los más utilizados son: células de hígado de embrión de pollo y fibroblastos de embrión de pollo. En serología se realiza a través de las pruebas ELISA e inhibición de la hemoaglutinación (HI). La prueba HI se basa en la reacción entre el virus y un antisuero específico para este, cuando el antisuero reacciona ante el virus, este se liga a los epítomos que son los responsables de la hemoaglutinación. Si el antisuero no es específico para el virus, ocurrirá la hemoaglutinación. Además para el diagnóstico del virus de Newcastle también se utiliza la tecnología PCR. (Domenech, J.; Vallat, B. 2009)

4.1.6.1 *Diagnóstico clínico*

Los virus muy virulentos pueden producir infecciones peragudas en pollos que son completamente susceptibles. Donde la primera indicación de enfermedad es la muerte súbita. (Shane, 2005)

Los virus de virulencia moderada o mesogénicos, por lo general causan enfermedad respiratoria grave, seguida por signos nerviosos, con más de 50% de mortalidad. Es posible que los virus de baja virulencia no causen enfermedad, o solo produzcan trastornos respiratorios benignos en pollos y pavos, durante un breve período. (Shane, 2005)

En general se pueden manifestar los siguientes síntomas:

- Síntomas respiratorios y/o nerviosos:
- Jadeo y tos
- Alas caídas, arrastran las patas, cabeza y cuellos torcidos, desplazamientos en círculos, depresión, inapetencia, parálisis completa.

- Interrupción parcial o completa de la producción de huevos.
- Huevos deformados, de cáscara rugosa y fina y que contienen albúmina acuosa
- Diarrea verde acuosa
- Tejidos hinchados en torno a los ojos y el cuello
- La morbilidad y mortalidad dependen de la virulencia de la cepa del virus, del grado de inmunidad a la vacunación, de las condiciones ambientales y del estado de las aves de la explotación. (Pastoret, 1998)

4.1.6.2 Lesiones

La enfermedad de Newcastle no produce lesiones patognomónicas macroscópicas y varias aves se deben de examinar para realizar un diagnóstico tentativo. Para el diagnóstico final se debe esperar el aislamiento del virus y su identificación.

Las lesiones que se pueden encontrar son:

- Edema del tejido intersticial o peritraqueal del cuello, especialmente cerca de la entrada torácica
- Congestión y algunas veces hemorragias en la mucosa traqueal
- Petequias y pequeñas equimosis en la mucosa del proventrículo, concentradas alrededor de los orificios de las glándulas mucosas
- Edema, hemorragias, necrosis o ulceraciones del tejido linfoide en la mucosa de la pared intestinal
- Edema, hemorragias o degeneración de los ovarios (OIE, 2009)

4.1.6.3 *Diagnóstico diferencial*

- Cólera aviar
- Influenza aviar
- Laringotraqueítis
- Viruela aviar (forma diftérica)
- Psitacosis (clamidiosis) (Aves psitácidas)
- Micoplasmosis
- Bronquitis infecciosa
- Enfermedad de Pacheco del papagayo (Aves psitácidas) (OIE, 2009)

4.1.6.4 *Diagnóstico de laboratorio*

Procedimientos

Identificación del agente

Inoculación en huevos embrionados de gallina de 9-11 días de edad y consecutivamente:

- Examen de la actividad de hemoaglutinación,
- Inhibición de la hemoaglutinación mediante un antisuero específico a la enfermedad de Newcastle. (OIE, 2009)

Evaluación de la patogenicidad

- Prueba en placas de cultivos de fibroblastos de embriones
- Tiempo medio de mortalidad a través de los huevos embrionados de gallina
- Índice de patogenicidad intracerebral en pollitos de 1 día de edad.
- Índice de patogenicidad intravenoso en pollos de 6 semanas (OIE, 2009)

4.1.6.5 Pruebas serológicas

Para la detección de anticuerpos contra la enfermedad de NC la prueba mas utilizada es la inhibición de la hemoaglutinación (HI). Además de esta prueba existen otras como Seroneutralización y ELISA. (Shane, 2005).

4.1.7 Prevención

Vacunación, programas convencionales.

La infección lentogénica puede ser prevenida con la administración de vacuna en aerosol o gota en el ojo de las aves, esta administración se puede realizar con un preparado del virus vivo y vacunas recombinantes. (Shane, 2005)

4.2 SISTEMA INMUNOLÓGICO DE LAS AVES

Como en mamíferos, varios mecanismos han sido desarrollados en las aves para protegerse de microorganismos invasores y sustancias extrañas. El sistema inmune aviar consiste principalmente en órganos linfoides primarios y órganos linfoides secundarios. Los órganos linfoides primarios son: El timo y la bolsa de Fabricio. (Chalghoumi, 2008)

Funcionalmente el sistema inmune de las aves esta dividido en dos partes: innato-no específico, mientras que la otra parte es adquirido-específico.

El sistema inmunológico adquirido, esta caracterizado por especificidad, heterogeneidad y memoria. Este sistema esta dividido en rama celular y no celular (humoral). (Grogan, 2007).

4.2.1 Timo

El timo es un órgano linfoide primario, necesario para el desarrollo de la respuesta inmune celular. Se trata de un órgano glandular localizado en los dos canales de la región cervical y lo componen de cuatro a cinco lóbulos. Los lóbulos contienen células epiteliales, agrupadas en forma laxa y, cada uno de dichos lóbulos, se encuentra cubierto por una cápsula de tejido conectivo. La parte externa de cada lóbulo, llamada corteza aparece densamente infiltrada de linfocitos. En cambio la parte interna, llamada médula, contiene menos linfocitos y las células epiteliales se observan con claridad. Los linfocitos T se originan en la médula ósea, pero se transforman dentro del timo después de unirse a los receptores en la pared de los capilares tímicos. (Chalghoumi, 2008)

4.2.2 Bolsa de Fabricio

En las aves, los linfocitos B se diferencian o maduran, en la bolsa de Fabricio. Este órgano es una sección modificada de la pared dorsal de la cloaca. Se trata de un órgano linfoepitelial que presenta una estructura redonda en forma de saco. En el interior de este saco, se extienden grandes pliegues de epitelio y, entre estos pliegues, se encuentran dispersos los folículos linfoides. (Estupiñan, 2006)

Los órganos linfoides secundarios son: el bazo, la médula ósea, la glándula de Harder, tonsilas cecales y tejidos linfoides organizados asociados con superficies mucosas. Incluyendo tejidos linfoides bronquiales (BALT), tejidos linfoides del tracto gastrointestinal (GALT) este se puede encontrar organizado como las placas de Peyer y tonsilas cecales o como agregados de células epiteliales a lo largo del tracto digestivo, tejidos linfoides conjuntivales (CALT) y nódulos linfáticos. (Chalghoumi, 2008)

4.2.3 Médula ósea

La médula ósea es un órgano hematopoyético que produce todas las células sanguíneas, incluyendo los linfocitos. También actúa como órgano linfoide primario donde las poblaciones de linfocitos pueden madurar. La médula ósea tiene dos compartimientos: uno hematopoyético y otro vascular. Ambos se alternan en capas, en zonas en forma de cuña dentro de los huesos largos. Las zonas hematopoyéticas de la médula ósea contienen precursores de todas las células sanguíneas, así como macrófagos y linfocitos. El compartimento vascular tiene sinusoides sanguíneos que aparecen revestidos por células endoteliales y atravesados por células reticulares y macrófagos. (Estupiñan, 2006)

4.2.4 Bazo

El bazo de las aves es un órgano oval y se encuentra en posición dorsal al proventrículo. El bazo filtra la sangre y en tal proceso se extraen tanto partículas antigénicas localizadas en el torrente circulatorio como células envejecidas. Además almacena eritrocitos y plaquetas, durante la vida fetal, participa en la eritropoyesis. Se divide en dos compartimentos: la pulpa roja que se encarga del almacenamiento y captación de los eritrocitos y la pulpa blanca, donde se produce la respuesta inmunitaria. (Estupiñan, 2006)

4.2.5 Glándula de Harder

La glándula de Harder se encuentra detrás del globo ocular, dentro de la órbita y es el principal órgano linfoide secundario del HALT, (tejidos linfoides asociados con la cabeza). Es la principal glándula accesoria secretora de anticuerpos del aparato lagrimal y es importante en el desarrollo de la inmunidad después de la vacunación. La glándula de Harder contiene grandes cantidades de células plasmáticas, constituidas en un 80 ó 90% por células B. El conducto de la glándula de Harder contiene un infiltrado de células linfoides subepiteliales y parece desempeñar un papel de gran importancia en el estímulo antigénico, mientras que la glándula en sí es la principal porción efectora. (Estupiñan, 2006)

4.2.6 Sistema inmunológico adquirido.

La rama no celular incluye las Inmunoglobulinas (anticuerpos) y las células que las producen. Los anticuerpos son específicos (especificidad) a sustancias desconocidas (antígenos) a los que atacan. Las células que producen anticuerpos son los linfocitos B. estas células son producidas en el hígado del embrión, saco vitelino y médula ósea. Las células se mueven hacia la bolsa de Fabricio luego de 15 días de incubación hasta las 10 semanas de edad. La bolsa de Fabricio programa estas células, las cuales se mueven a sangre, bazo, tonsilas cecales, médula ósea, glándula de Harder y timo. Cuando un organismo desconocido entra al cuerpo, este es envuelto por células fagocíticas, los macrófagos, que digieren parcialmente al organismo desconocido y se convierten en presentadores de antígenos, muestran partículas del antígeno desconocido en sus superficies. (Chalghoumi, 2008)

Estas partículas forman complejos con las glicoproteínas del MCH clase II. Luego el macrófago transporta cada complejo y lo expone a los linfocitos T (células T de ayuda). El último, que presenta un receptor que pueda ligarse específicamente al antígeno presentado, se liga al sistema de reconocimiento del complejo del macrófago. Subsecuentemente las células T de ayuda entran en contacto con los linfocitos B, quienes presentan en su superficie las partículas desconocidas al mismo tiempo que las glicoproteínas del MCH clase II. Esta ligación activa la diferenciación de los linfocitos B a plasmocitos, que son células efectoras de secreción de anticuerpos. Las células B responden produciendo anticuerpos al día 5 luego de la exposición. Este intervalo de tiempo ocurre porque las células B deben ser programadas y luego pasar por el proceso de expansión clonal para incrementar sus números. Si un ave es expuesta por segunda vez al mismo antígeno, la respuesta será más rápida y eficiente con un nivel alto de anticuerpos en producción (memoria). (Chalghoumi, 2008)

4.3 Inmunoglobulinas

Los anticuerpos, responsables de la transferencia de inmunidad pasiva en las gallinas, son un tipo de glicoproteínas denominadas inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas de las aves, al igual que las de los mamíferos, presentan una cadena liviana (L) y una cadena pesada (H), que se encuentran unidas mediante puentes disulfuro. La molécula se compone de una región constante y otra variable que le confiere especificidad en la unión con diferentes antígenos. (Chacana, 2002)

Existen tres clases de inmunoglobulinas encontradas en las aves, son diferentes en concentración, estructura y función inmunoquímica. Y son: IgA, IgM e IgY. (Chacana, 2002)

- IgA, importante como anticuerpo secretorio en las mucosas.
- IgM, anticuerpos activos sobre toxinas bacterianas, bacterias y virus. Aparecen precozmente en la respuesta inmune.
- IgY, anticuerpos que atraviesan la pared del saco vitelino del huevo; anticuerpos activos sobre toxinas bacterianas, bacterias y virus. Aparecen tardíamente en la respuesta inmune.

La IgY es la principal inmunoglobulina del suero sanguíneo y análogamente a la IgG presente en los mamíferos, está implicada en la respuesta inmune secundaria. (Grogan, 2007)

Comparación entre las diferentes inmunoglobulinas en las aves.

Tabla 1

INMUNOGLOBULINA	TIEMPO DE SECRECIÓN	FUNCIONES PRINCIPALES	LOCALIZACIÓN
IgM	Inicial después de la inmunización.	Se une al complemento y lo activa	Suero, superficie de las células B
IgA	Su síntesis ocurre continuamente	Inmunidad de las mucosas, neutraliza virus y toxinas microbianas, impide la adherencia y colonización con microorganismos patógenos.	Suero, bilis, superficies mucosas, saliva, lágrimas.
IgY	Después de la síntesis de IgM, anticuerpo materno.	Recuerda la respuesta a los antígenos, se une a las células fagocitarias, activa al complemento cuando se une al antígeno	Suero, yema de huevo.

(Grogan 2009)

4.3.2 Inmunoglobulina Y (IgY)

Históricamente la IgY ha sido denominada IgG debido a su función y concentración sérica en comparación con la IgG. Sin embargo, este término no es apropiado especialmente porque presentan diferencias estructurales en sus moléculas. (Chalghoumi, 2008)

La IgY tiene una masa molecular de 180 KDa por lo cual es más pesada que la IgG mamífera de 150 KDa. La estructura general de la molécula de la IgY consiste en dos cadenas pesadas (H) y dos livianas idénticas (L), que están unidas por puentes disulfuro. La cadena liviana de IgY consiste en una variable (VI) y un dominio constante (C2) como la IgG mamífera. Pero la unión disulfuro dentro de la cadena se encuentra entre la región VI y C2 de la cadena L, que estabiliza la estructura de la cadena L de la IgG mamífera, esta se encuentra ausente en la cadena L de la IgY y por lo tanto las fuerzas intramoleculares de la IgY son mas débiles que las de la IgG mamífera (Shimizu et al., 1993).

La cadena pesada de la IgY contiene un dominio variable (Vh), cuatro dominios constantes (CH1; CH2; CH3 y CH4) a diferencia de la IgG mamífera que consiste en 3 dominios constantes (CH1; CH2 Y CH3). (Chalghoumi, 2008)

En la cadena pesada de la IgG, CH1 Y CH2 están separadas por una región bisagra la cual otorga flexibilidad considerable a la porción que contiene actividad de ligación de antígenos. En contraste, la cadena pesada de la IgY no tiene una región bisagra, pero si hay regiones cerca de los límites de los dominios CH1; CH2 y CH2; CH3 que contienen residuos de prolina y glicina, estas regiones tienen potencial de brindar flexibilidad a la molécula. (Chalghoumi, 2008)

4.3.3 Inmunidad Neonatal

Los neonatos nacen con el sistema inmune incompleto, la inmunidad materna es pasada al embrión a través de fluido amniótico y la yema del huevo cuando este los ingiere durante y después de la ruptura del cascarón. De ahí que el sistema inmune comienza a desarrollarse antes de la eclosión y se completa en la madurez sexual. (Bermudez 2006).

Las aves se diferencian de los mamíferos, en la forma en que desarrollan su sistema inmune; es muy diverso, se encuentran cambios importantes durante las primeras semanas de vida, con un único órgano como la bolsa de Fabricio y un proceso llamado cambio o conversión de genes. (Bermudez, 2006)

Uno de los estados más importantes en este desarrollo, ocurre entre las primeras 6 semanas de vida del ave, cuando el cambio o conversión genético está tomando lugar en la bolsa de Fabricio. Las inmunoglobulinas en el fluido amniótico, IgM e IgA son tragadas por el embrión y esto correspondería a la ingestión de calostro en mamíferos (Rose et al., 1974) sin embargo este traspaso es mínimo. La IgY en la yema es absorbida en las etapas mas avanzadas de desarrollo embrionario hasta poco después del nacimiento (kowalczyk et al., 1985). La cantidad de anticuerpos transferidos de la madre al pollito puede variar, dependiendo de la edad de la madre así como del nivel de títulos de anticuerpos séricos que esta posea. (Bermudez, 2006)

4.3.3 Transferencia de la IgY a la yema de huevo

Los anticuerpos son transferidos de la madre al embrión, a través de la etapa latente del huevo, y juega un importante rol en la función inmunológica para la relativa inmunocompetencia del pollito para resistir varias enfermedades infecciosas.

El suero con IgY es selectivamente transferido por el sistema circulatorio de la madre a través del oolema dentro del oocito maduro en el folículo ovárico (Rose et al., 1981). Esta transferencia ocurre por un receptor específico en la superficie la membrana del saco vitelino que permite un transporte selectivo de las las subpoblaciones de IgY presentadas por la sangre materna (Tressler et al., 2001; Mohamed et al., 1998; Morrison et al., 2001). En las membranas de los ovocitos de las gallinas existen receptores específicos que captan activamente las IgY presentes en el suero. Esto permite que en la yema de huevo, la concentración de IgY alcance niveles similares a los del suero (6 a 13 mg/mL).

La IgA e IgM maternas son incorporadas dentro de la clara de huevo en el oviducto con la secreción de albúmina. La IgA e IgM de la clara de huevo son subsecuentemente transferidas al tracto intestinal del embrión cuando este traga fluido amniótico. (Patterson et al., 1962). Las concentraciones de IgA 0.7 mg.ml^{-1} e IgM 0.15 mg.ml^{-1} en la clara son relativamente bajas mientras que IgY $8\text{-}25 \text{ mg.ml}^{-1}$ en la yema de huevo se encuentran en niveles muy altos (Rose et al., 1974). Las IgM e IgA, sólo se encuentran en trazas en la yema. Mientras que el contenido de inmunoglobulinas en la yema del huevo corresponde casi exclusivamente a IgY. (Chalghoumi, 2008)

La transferencia ovárica de las IgY al huevo demanda alrededor de 5 días (Patterson et al., 1962). En general, tomando en cuenta este intervalo de tiempo en cuanto al título de una IgY específica, existe una importante correlación positiva entre los títulos séricos y los presentes en la yema (Erhard et al., 1997).

4.4 PRUEBA SEROLÓGICA DE INHIBICIÓN DE HEMOAGLUTINACIÓN (HI)

Inhibición de hemoaglutinación, según Manual de pruebas diagnósticas y vacunas para animales terrestres, OIE. <http://www.oie.int/normes/mmanual/A00038.htm>

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 RECURSOS HUMANOS

- Estudiante tesista.
- Tres Médicos veterinarios asesores.
- Personal técnico de Finca San Julián, municipio de Patulul, departamento de Suchitepéquez

5.2 RECURSOS INSTITUCIONALES

- Laboratorio de Patología aviar, Facultad de Medicina Veterinaria, USAC.

5.3 RECURSOS BIOLÓGICOS:

- 32 gallinas de postura comercial

5.4 MATERIAL DE CAMPO

- 32 Pajillas
- 1 Caja de jeringas 3ml con aguja hipodérmica 23x1”
- 1 Caja plástica almacenadora
- 64 Identificadores
- 1 Marcador permanente
- 1 Litro de alcohol
- 1 Litro de solución salina buferada (PBS)
- 6 Cartones para huevo
- 32 Huevos
- 1 Masking tape scotch 3400
- 2 Lápices

5.5 MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO

- 1 litro de Solución salina buferada (PBS)
- 32 Jeringas
- 1 Centrífuga
- Prueba de inhibición de hemoaglutinación (HI)
- 1 Micropipeta multicanal
- 1 Micropipeta unicanal
- 32 Puntas plásticas o tips

- 1 Aguja No. 14
- 32 Tubos de ensayo
- 1 Agitador de placas
- 1 cc de glóbulos rojos lavados de pollo al 1%
- 1 Placa de poliestireno de 96 pozos para HI, fondo e “U”
- 1 Timer
- 5 cc de antígeno Newcastle 8DHA (dosis hemoaglutinante)

5.6 MATERIAL DE ESCRITORIO

- Lápiz y lapiceros
- Hojas de papel tamaño carta
- Cámara digital
- Computadora
- Impresora
- Libreta de apuntes
- Tinta negra y de colores

5.7 ÁREA DE ESTUDIO

Las aves muestreadas provinieron de de Finca San Julián, ubicada en el municipio de Patulul, en el departamento de Suchitepéquez, a una distancia de 6.6 kilómetros de la cabecera departamental y a 124.6 kilómetros de la ciudad de Guatemala. Tiene como colindancias otras fincas al Norte con la finca "Santa Cecilia", al sur con la finca "Las Vegas", al este con la finca "La Trinidad" y al este con las fincas, "El Recuerdo" y "San Juan Luisiana". La extensión territorial de la finca es de 337.5 hectáreas, aproximadamente a 3.74 Kms². Las aves de postura comercial se encuentran distribuidas en dos galpones, y estas son variedad genética Lohman Brown, cada uno de los galpones tiene una capacidad para 1,000 aves.

5.8 DISEÑO DE ESTUDIO

El presente estudio es descriptivo de corte transversal. Donde se determinaron anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, en suero sanguíneo de gallinas de postura comercial y en la yema de huevo. **Selección de la muestra:** se seleccionaron por conveniencia 32 gallinas y un huevo de cada una de ellas.

5.9 COLECTA DE HUEVOS PARA OBTENCIÓN DE YEMAS

Se inició la colecta de huevos a las 5 am, cada uno de los huevos fue identificado de acuerdo al ave correspondiente que realizó la postura. Las gallinas de postura comercial se dividieron en 10 jaulas, 1 jaula por ave. Cada jaula se enumeró para facilitar la identificación en los huevos. Las aves se situaron separadas del resto de la parvada en el área de hospital del galpón de Finca San Julián. Debido a que se utilizaron 10 jaulas, la colecta de huevos se realizó en 3 días. En el tercer día se recolectaron 12 huevos, se adicionaron 2 huevos más, para un total de 32 huevos.

5.10 MUESTREO SEROLÓGICO

Inmediatamente después de cada postura se muestrearon serológicamente las aves. El muestreo serológico se obtuvo mediante la extracción de sangre en la vena alar. La sangre de cada ave se depositó en una pajilla lentamente quitándole la aguja a la jeringa y las muestras recolectadas se colocaron en un ángulo de 45 grados, para que estas coagularan y se pudiera obtener el suero. Luego se almacenaron en una caja plástica. Cada una de las muestras tomadas se identificó de acuerdo a la numeración de cada jaula, por lo que la toma de muestras para serología se realizó en 3 días tomando en cuenta que se utilizaron 10 jaulas por día, a excepción del tercer día, en el que se muestrearon serológicamente 12 gallinas, se adicionaron 2 sueros más, para un total de 32 muestras de suero.

5.11 *Realización de la prueba HI:*

Inhibición de hemoaglutinación, según Manual de pruebas diagnosticas y vacunas para animales terrestres, OIE. <http://www.oie.int./normes/mmanual/A00038.htm>

5.12 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras obtenidas de suero sanguíneo y yema de huevo se procesaron en el laboratorio de Patología aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Tanto para el suero como para la yema de huevo, se realizó la prueba de Inhibición de hemoaglutinación (HI), se utilizó la técnica recomendada por la OIE, en la cual se utilizaron diluciones dobles seriadas de las muestras (suero y yema) en placas de poliestireno de 96 pozos, y antígenos de Newcastle con 8 DHA y glóbulos rojos de pollo al 1%.

5.13 Para las muestras de yema de huevo:

Las muestras de yema de huevo se tomaron haciendo un pequeño agujero en la parte superior del huevo. Luego se introdujo una aguja No. 14 con una jeringa hasta la altura donde se encuentra la yema. Lentamente se extrajo la yema (1 ml) evitando extraer albúmina. Este contenido de yema se mezcló con 1 ml de PBS y se colocó en una centrífuga a 1000 Rpm por 30 minutos. Se tomó el sobrenadante amarillo traslúcido para la prueba de HI.

5.14 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó a través de la comparación entre los dos grupos correspondientes a: títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, en suero sanguíneo y títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en yema de huevo, tomando en cuenta que estas muestras vienen pareadas (suero, huevo) de una misma ave. Para lo cual se hizo uso de estadística descriptiva. Para medir la diferencia entre los resultados serológicos y de las yemas de huevo se utilizó la prueba de **Hipótesis para diferencia de Medias.**

VI. RESULTADOS

Se realizó un promedio general de ambos grupos, títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo yema de huevo.

Tabla 2: Determinación de medias obtenidas de acuerdo a la medición de títulos de anticuerpos contra enfermedad de Newcastle, en los grupos: suero sanguíneo y yema de huevo.

Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo (Log ²)	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en yemas de huevo (Log ²)
8	7
8	7
9	8
7	8
10	8
7	8
9	10
7	10
10	8
10	8
9	8
11	9
11	9
10	10
10	10
11	8
7	8
11	8
11	9
11	11
11	10
11	10
11	10
11	10
11	8
11	7
11	7
11	11
11	11
9	11
11	11
8	11
Promedio: $\bar{X} = 9.81$	Promedio: $\bar{X} = 9.03$

Para poder obtener la comparación entre medias, se realizó la determinación de desviación estándar y varianza, utilizando las medias de ambos grupos, suero sanguíneo y yema de huevo. A través de la siguiente fórmula:

Varianza

$$s^2 = \frac{(\text{título de suero sanguíneo} - \text{media obtenida en suero sanguíneo})^2}{\text{Número de muestras de suero sanguíneo}}$$

De la misma forma se formuló para varianza en el grupo de yemas de huevo.

Varianza 1

$$s^2 = \mathbf{2.8}$$

Varianza 2

$$s^2 = \mathbf{1.84}$$

Desviación estándar

Para determinar la desviación estándar de ambas varianzas grupo suero sanguíneo y yema de huevo, se utilizó la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{s^2}$$

Desviación estándar, en suero

$$S = 1.44$$

Desviación estándar, en yema

$$S = 1.35$$

Prueba de Hipótesis para diferencia de medias

Para observar la diferencia entre los resultados obtenidos en varianza 1 y varianza 2, se utilizó la Prueba de hipótesis para diferencia de medias, para determinar si existe diferencia significativa entre las medias de los grupos de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo y yema de huevo. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

Se propuso dos hipótesis de acuerdo al rechazo o aceptación para la diferencia de medias.

Ho:

No existe diferencia entre el Promedio de suero sanguíneo y el promedio obtenido en yemas de huevo

Hi:

Existe diferencia entre el Promedio de suero sanguíneo y el promedio obtenido en yemas de huevo

$$\alpha = 0.05 = 95\% \text{ de confianza}$$

Resultado de prueba de hipótesis para la diferencia de medias:

$$t = 1.65$$

VI. DISCUSIÓN

Al evaluar el suero sanguíneo de las gallinas de postura, a través de la prueba HI, para la obtención de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle con un total de 32 muestras, se realizó una media de los títulos obtenidos, el resultado de la media fue de: 9.81 Log².

Se realizó la evaluación de los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en las 32 yemas de huevo. Cada una de las yemas evaluadas con prueba HI, correspondió directamente a cada gallina de postura muestreada para la obtención de sueros. Una vez obtenidos los títulos de anticuerpos, se realizó una media, el resultado de la media fue de: 9.03 Log².

Los títulos de anticuerpos obtenidos en suero sanguíneo demostraron ser más altos que los títulos de anticuerpos obtenidos en yema de huevo. La diferencia entre ambas medias es de: 0.78. Para poder interpretar la comparación entre ambas medias de los dos grupos, suero sanguíneo y yema de huevo, se utilizó la prueba de hipótesis para diferencia de medias.

Se pudo establecer que no existe diferencia significativa entre las medias de ambos grupos. Lo que sugiere que es igual determinar títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle utilizando suero sanguíneo y yema de huevo.

Resultados similares fueron obtenidos por Sa'idu L., Abdu y L.B. Tekdek, (2006), utilizó la prueba HI para la determinación de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo y yema de huevo. En el estudio se demostró la correlación entre yema de huevo y suero sanguíneo, a través de la prueba coeficiente de correlación de Pearson. Las medias obtenidas en suero sanguíneo: 6.8, 7.6 y 5.8 títulos de anticuerpos Log², en comparación con las medias obtenidas de yema de huevo: 5.4, 5.1 y 5.6 títulos de anticuerpos Log².

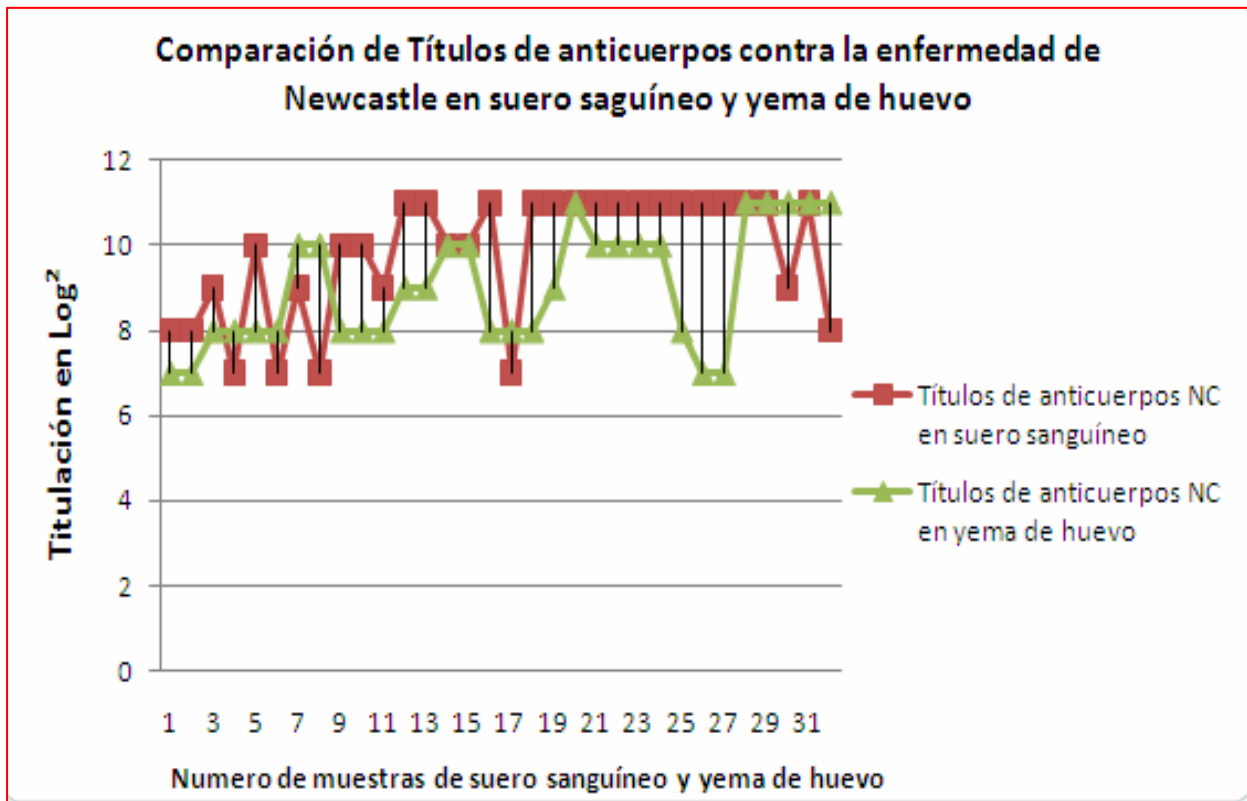
Se demostró que existe correlación positiva entre los títulos de anticuerpos contra enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo y en la yema de huevo.

(Shaban Rahim., et al 2007) también describe la relación de títulos de anticuerpos en suero sanguíneo y yema de huevo a través de la prueba ELISA, contra influenza aviar H9N2 en gallinas de postura. A través de la prueba exacta de Fisher se demostró que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos en suero sanguíneo y yema de huevo.

(Rauber RH., et al 2004) realizó una comparación de títulos de anticuerpos contra bronquitis infecciosa, utilizando suero sanguíneo y yema de huevo a través de ELISA, en gallinas de postura. Este estudio demostró una alta correlación positiva ($r=0.62$ y $a=0.05$), la media obtenida en suero sanguíneo fue de 3.47 Log^{10} , en comparación con la de yema de huevo 3.4 Log^{10} , con una diferencia de 0.07 .

Los resultados descritos en estos estudios son congruentes con los resultados obtenidos, ya que han demostrado que los títulos en suero sanguíneo se mantienen más altos que los títulos obtenidos en yema de huevo. Además como en el presente estudio, recomiendan el uso yema de huevo como alternativa al suero sanguíneo para la determinación de títulos de anticuerpos contra enfermedad de Newcastle, así como para otras enfermedades infecciosas como Influenza aviar y bronquitis infecciosa.

Por lo tanto la utilización de yema de huevo para la medición de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, es un método efectivo y confiable, además alternativo a la utilización de suero sanguíneo. La recolección de huevos evita tener contacto directo con las aves al no existir manipulación y de esta manera se evita el estrés. Recolectar huevos es más sencillo y práctico, que muestrear serológicamente a las aves a través de la colecta de sangre.



Gráfica 1: los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo se mantienen más altos que los títulos de anticuerpos obtenidos en yemas de huevo. Sin embargo existe gran similitud, esto se comprobó mediante la obtención de diferenciación de medias.

VII. CONCLUSIONES

1. La media obtenida en la evaluación de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en suero sanguíneo, a través de la prueba HI fue de 9.81 Log². La media obtenida en la evaluación de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en yemas de huevo, a través de la prueba HI fue de 9.03 Log², la cual es más baja en relación a la media obtenida en suero sanguíneo.
2. De acuerdo al dato anterior no existe diferencia significativa en la comparación de medias de los grupos: suero sanguíneo y yema de huevo, lo que sugiere que existe igualdad en la determinación de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, utilizando suero sanguíneo y yema de huevo. Por lo que se puede concluir que además de ser una alternativa a la utilización de suero sanguíneo, para la determinación de títulos de anticuerpos contra enfermedad de Newcastle, el uso de yema de huevo disminuye el estrés en las aves, ya que no implica el contacto directo con las mismas.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la utilización de yema de huevo para la medición de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en gallinas de postura comercial a través de la prueba HI.
2. Ya que la utilización de yema de huevo es un método confiable y práctico, es recomendable para estudios epidemiológicos, en la medición de títulos de anticuerpos contra Newcastle.
3. Debido a que no existe manipulación de las aves, ya que solo implica la recolección de los huevos, se recomienda la utilización de yemas de huevo para la medición de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, evitando así el estrés en los lotes muestreados.
4. Se recomienda como herramienta en bioseguridad, ya que la utilización de los huevos, para obtener títulos de anticuerpos a través de las yemas; previene la entrada de agentes infecciosos, pues no requiere la presencia directa de la persona para la toma de las muestras para el análisis de laboratorio.

IX. RESUMEN

En el presente estudio se realizó una comparación de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle (NC), entre suero sanguíneo y yema de huevo, en gallinas de postura. Esta comparación fue evaluada a través de la prueba inhibición de la hemoaglutinación (HI) utilizando la técnica recomendada por OIE. El ensayo se llevo a cabo en Finca San Julián, municipio de Patulul, departamento de Suchitepéquez. El ensayo se llevo a cabo en tres días, se introdujeron 10 gallinas en 10 jaulas, una jaula por ave. Se realizó el muestreo serológico tomando 10 gallinas por día, a excepción del tercer día en el cual se muestrearon 12 gallinas. De cada gallina utilizada para el muestreo serológico se recolectó directamente un huevo, por lo tanto se obtuvieron un total de 32 huevos y 32 sueros sanguíneos. Las muestras de suero sanguíneo y yema de huevo se procesaron en el Laboratorio de Patología aviar, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Para la prueba HI se utilizaron diluciones dobles seriadas de las muestras (suero y yema) en placas de poliestireno de 96 pozos fondo en "U", antígenos de Newcastle con 8 DHA y glóbulos rojos lavados de pollo al 1%. Las muestras de yema de huevo se tomaron haciendo un agujero en la parte superior del huevo. Luego se introdujo una aguja hasta la altura donde se encuentra la yema. Lentamente se extrajo la yema (1 ml) evitando extraer albúmina. Este contenido de yema se mezcló con 1 ml de PBS y se colocó en una centrífuga a 1000 Rpm por 30 minutos. Se tomó el sobrenadante amarillo translúcido para la prueba de HI. Una vez obtenidos los resultados de títulos de anticuerpos contra NC a través de la prueba HI, se realizó una media de cada grupo, la media correspondiente al grupo suero sanguíneo fue de: 9.81 Log². La media correspondiente al grupo yema de huevo fue de: 9.03 Log². A través de la prueba estadística de hipótesis para diferencia de medias, se pudo establecer que no existe diferencia significativa entre ambas medias. Se pudo concluir que se puede implementar el uso de yema de huevo para la medición de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Bermúdez, E. 2006. Patología aviar UPTC (Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia). Artículos y temas de la clase de patología aviar del programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (en línea). Disponible en <http://patologiaaviaruptc.blogspot.com/2006/11/el-sistema-inmune-aviar.html> Consultado 12 de sep. 2009.
2. Chacana, P. Terzolo, H. 2002. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Una introducción a la tecnología IgY, anticuerpos de yema de huevo. (en línea). Disponible en <http://74.125.113.132/search?q=cache:ofh8hu9L9ssJ:www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/otras/aves/igy.htm+inmunoglobulinas+de+las+aves&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=gt> Consultado 20 sep. 2009.
3. Chalghoumi, R; Beckers, Y; Portetelle, D; Théwis, A. 2008. *Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review*. En: Biotechnologie Agronomie, Société et Environnement. Una publicación de Gembloux Agro-Bio Tech, vol. 13, no. 2 p. 296-302
4. Devore, J.L. (2000). Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias, 5ta. Edición, Thomson Learning. 98-99 p.
5. Domenech, J.; Vallat, B. 2009. *Avian Influenza and Newcastle disease. A field and laboratory Manual*. Milán, Italia. *Conventional diagnosis of Newcastle disease virus infection*. Springer-verlog. 73-75 p.

6. Estupiñan, G. 2006. patología aviar UPTC_(Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia). Artículos y temas de la clase de patología aviar del programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. (en línea). Disponible en <http://patologiaaviaruptc.blogspot.com/2006/11/como-funciona-y-cuales-son-las.html> Consultado 12 de sep. 2009.
7. Grogan, K; Fernández, R; Barrañon, F; Espinosa, H. 2007 El sistema inmune de las aves una breve revisión. En: Industria Avícola, revista para empresarios y profesionales en la avicultura Latinoamericana. Una publicación de Watt9, vol. 3 p. 3-7
8. Hartshon, C. *Newcastle disease*. *Brandeis University*. 2007. (en línea). Disponible en <http://www.brandeis.edu/projects/wanghlab/applicationsNewcastle.html> Consultado 20 sep. de 2009.
9. Jordan FTW; Pattinson M. 1998 Enfermedades de las aves. México. EL Manual Moderno, S.A. de C.V. 136, 137, 139 -142 pp.
10. Levin, Richard L. y David S. (2004). Estadística para administración y Economía, 7ma. Edición, Pearson. 360 p.
11. Moreno, R. 1994. La enfermedad de Newcastle y algunos avances recientes de diagnostico. En: Ciencia veterinaria: Publicación de la Universidad Nacional Autónoma de México, vol. 6 p. 51-54
12. Murphy, F; Gibbs, E; Paul J; Horzinek, M; Sttudert, J. *Veterinary Virology*. 2002. *Laboratory Diagnosis of Viral Diseases*. San Diego. 3ra ed. s.e. 218 p.

13. OIE (Organización mundial de sanidad animal). Enfermedad de Newcastle. 2009. (En línea). Disponible en

http://www.oie.int/esp/maladies/fiches/e_A160.HTM Consultado 29 ago. 2009.

14. Pastoret, P; Griebel, P; Bazin H; Govaerts, A. 1998. *Handbook of vertebrate immunology. Avian immunology, maternal antibodies*. San Diego, California. 105 p.

15. Rauber RH; Flores ML; Pereira CE; Grigulo M. 2004. *ELISA evaluation of the levels against Infectious Bronchitis virus, in lying hens using egg yolk as substrate. Brazilian Journal of poultry science* (en línea) Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-635X2004000200008 Consultado 21 mar. 2011.

16. Sa'idu L; Abdu y L.B. Tekdek. 2006. *Newcastle disease antibodies in parent stock, yolk and chicks. Journal of animal and veterinary advances*. (en línea) Disponible en: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2006/503-506.pdf> Consultado 21 de mar. 2011.

17. Shane, S. 2005. *ASA Handbook on poultry diseases*. 2da. Ed. Singapur, s.e. 79-81 p.

18. Shaban Rahim; Ehsam Salehifar; Seyed Ali Ghorashi. 2007. *The effect of egg-derived antibody on prevention of Avian Influenza subtype H9N2 in layer chickens. International Journal of poultry science*. (en línea) Disponible en: <http://www.pjbs.org/ijps/fin824.pdf> Consultado 21 mar. 2011.

19. *ViralZone*. 2009. *SIB Swiss Institute of Bioinformatics*. (en línea). Disponible en http://74.125.113.132/search?q=cache:3Ppw5AIZCNIJ:www.expasy.ch/viralzone/all_by_species/84.html+newcastle+virus+paramixovirus+avulavirus&cd=3&hl=es&ctZZ=clnk&gl=gt. Consultado 29 de Ago. 2009.