

EVALUACIÓN DE DOS PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN POLLOS DE ENGORDE DE LA LÍNEA ROSS CRIADOS BAJO CONDICIONES DE CAMPO EN EL ESTADO ZULIA, VENEZUELA.

1. PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y REACCIÓN POSTVACUNAL

Evaluation of Two Vaccination Programs against Newcastle Disease in Ross Line Broiler Chickens Reared under Field Conditions in Zulia State, Venezuela.

1. Productive Parameters and Posvaccine Reaction

Francisco Perozo Marín¹, Jesús Nava², Sergio Rivera¹, Yaneth Mavarez², Víctor Aguillon³ y Víctor Pino³.

¹ Profesor Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia. ² Médico Veterinario. ³ Estudiante de Medicina Veterinaria. Apartado 15252, Maracaibo 4005-A Estado Zulia, Venezuela. E-mail: frankperozo1@latinmail.com

RESUMEN

Bajo condiciones de campo en el Centro Experimental de Producción Animal de la Universidad de Zulia, se evaluó la reacción postvacunal y los parámetros productivos de pollos de engorde en respuesta a la implementación de dos planes de vacunación contra la enfermedad de Newcastle (ENC). Se usaron 3 grupos de 200 pollos Ross de un día de edad. Los tratamientos fueron: T1: Control sin vacunación contra ENC; T2: Cepa Hitchner B1B1 con Spravac al día 1; T3: Cepa enterotrópica (VG/GA) + Oleosa al día 1, ambos con refuerzos al día 7 y 14 (cepa La sota en spray y agua respectivamente). Se determinaron los títulos de anticuerpos maternos (TAM) contra ENC hasta el día 12, a través de Inhibición de la Hemoaglutinación, así como el grado de reacción postvacunal durante los primeros 21 días del ensayo a través del Índice de Stress (IS). Por seis semanas se estudió la Ganancia de Peso (GP) Conversión (CON) y Mortalidad (MOR). La data se analizó usando ANOVA del paquete estadístico SAS. Los TAM promediaron una media geométrica del título de 120 durante el periodo de vacunaciones. Para los grupos T1, T2 y T3 los parámetros productivos promediaron: GP: 2.079g / 2.145g / 2.192g; CON: 1,58 / 1,59 / 1,45; MOR: 4,6% / 5,4% / 4,7% respectivamente. El promedio de IS causado por las vacunaciones contra ENC para los 21 días observados fueron 0,03 / 0,26 y 0,18 respectivamente. Las reacciones postvacunales fueron inhibidas pro-

blemente por los altos TAM encontrados. Ninguna de las variables estudiadas difirió significativamente entre tratamientos. Se concluye que ni la cepa vacunal utilizada, ni el manejo durante el proceso de vacunación contra ENC, evaluados afectaron la reacción postvacunal o respuesta productiva del lote.

Palabras clave: Enfermedad de Newcastle, parámetros productivos, reacción postvacunal, pollos de engorde.

ABSTRACT

Under field conditions at the experimental production center of the Zulia State University, post-vaccine reactions and productive parameters were studied in response to two vaccination programs against Newcastle Disease (ND). Three groups of 200 Ross strain broiler chicks were used. The treatments applied were T1: Control group without vaccination against ND; T2 Hitchner B1B1 strain applied using spravac at day 1; T3 enterotropic strain (VG/GA) in oil solution at day 1. Both groups were revaccinated at 7 and 14 days with La sota strain through spray and water respectively. Maternal antibody titers (MAT) against ND were determined through haemoagglutinin inhibition tests for the first 12 days of the birds' lives. Posvaccine reactions were determinate through the Stress index (SI) for the first 21 days of the study. During six weeks Body weight (BW) Conversion (CON) and Mortality percentage (MOR) were recorded. Data were analyzed through ANOVA of the SAS Analysis System. MAT averaged an antibody titer geometric

mean of 120 during the vaccination period. For T1, T2 and T3 groups the productive parameters averaged: BW: 2.079g / 2.145g / 2.192g; CON: 1.58 / 1.59 / 1.45; MOR: 4.6% / 5.4% / 4.7% respectively; The SI average induced by the vaccinations against ND for the 21 day observations were: 0.03 / 0.26 y 0.18. The posvaccine reactions were masked probably due the high MAT observed. None of the variables evaluated were different among treatments. It can be concluded that neither the strain nor the management in the vaccination process against ND evaluated affected posvaccine reactions or the productive response of the birds.

Key words: Newcastle disease, productive parameters, posvaccine reaction, broiler chicks.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Newcastle (ENC) es una enfermedad de gran importancia en pollos y otras especies aviares a escala mundial. La naturaleza y magnitud de la enfermedad varía entre países. En los últimos años ha llamado la atención el reporte de serios brotes de la enfermedad en diferentes especies de aves domesticas en América Latina y otros países con industrias avícolas emergentes [3, 13, 17]. La ENC es producida por un virus tipo paramixovirus, capsulado con genoma que posee una cadena sencilla de ARN no segmentada e infecta por lo menos 236 especies de aves. El virus se clasifica en 5 patotipos: velogénico viscerotrópico, velogénico neurotrópico, mesogénico, lentogénico y entérico asintomático [3].

La vacunación contra la enfermedad de Newcastle (ENC) es sin duda una herramienta de especial importancia para garantizar la salud de la parvada [28]. Las condiciones ambientales, de manejo y la genética del ave condicionan la capacidad de respuesta a los planes de vacunación [23]. Por esto es inadecuado extrapolar los datos y patrones provistos por la literatura, sin tener claro si se repiten bajo condiciones ambientales propias de Venezuela. [7]. Los planes de vacunación deben ser adaptados a cada región de acuerdo a las cepas presentes en la misma, manteniendo una vigilancia permanente a través de evaluaciones serológicas periódicas, que indiquen el estatus inmunológico de las aves para ENC [13].

Durante el año 2002 se registró en el estado Zulia un brote de ENC, donde se demostró la presencia de un virus de alta patogenicidad (velogénico viscerotrópico) [13]. Para enfrentar la contingencia se propuso la sustitución del plan de vacunación contra ENC que venia utilizándose en las explotaciones comerciales de la zona, el cual consistía en aplicar en incubadora una dosis de virus vivo de baja patogenicidad cepa Hitchner (B1B1), aplicando luego a campo cepa La sota a los días 7 y 14 por aspersión y en el agua de bebida respectivamente. Este plan se sustituyó por la vacunación en incubadora con una vacuna oleosa (virus inactivado) + una vacuna a virus vivo de replicación entérica cepa Villegas/Glissson de la Uni-

versidad de Georgia (VG/GA) seguida el día 7 de un refuerzo con virus vivo de ENC cepa La sota (aereosol) que se repite el día 14 a través del agua de bebida [13].

Las evaluaciones individuales de las cepas vacunales utilizadas en este ensayo, han sido realizadas principalmente en aves libres de anticuerpos contra ENC y bajo condiciones de laboratorio [6, 9, 19, 24, 25, 27]. Las condiciones de campo a las que son sometidas las aves en el estado Zulia incluyen altos títulos de anticuerpos maternos contra ENC lo cual interfiere con la calidad de la respuesta inmunológica en los pollos [2, 14, 15, 17, 19, 21, 25]. Además existe riesgo real de enfrentarse a factores inmunosupresores como micotoxinas, Marek o Gumboro [5, 7, 11, 12, 17].

El nuevo plan de vacunación difiere en varios aspectos importantes del anterior, pues altera la estructura de costos al incrementar el numero de biológicos utilizados, mientras desde el punto de vista del manejo conferido al ave el primer día, la aplicación de una vacuna oleosa implica someter al pollito a dos aplicaciones por vía parenteral en un corto periodo de tiempo, ya que estos deben recibir la vacunación contra la enfermedad de Marek (inyección) al mismo momento. Esta doble manipulación incrementa ostensiblemente el nivel de estrés a que es sometida el ave, pudiendo ocasionar efectos negativos en el proceso de adaptación a las condiciones de campo y en consecuencia sobre su rendimiento productivo [20, 23].

Las vacunas, sobre todo aquellas con base en virus vivo que tienen afinidad por las células del aparato respiratorio, causan una reacción que se manifiesta por estornudos, mucosidad y lagrimeo. Estos signos se presentan por lo regular al 4° día después de vacunar las aves y son la manifestación externa de que el virus vacunal se esta replicando en las células y de que por lo tanto es de esperarse una respuesta inmune [8]. En el proceso de replicación, los virus que penetran en las células demandan de estas los elementos necesarios para constituir nuevas partículas virales con el mismo genoma de sus predecesoras. Una vez completado el proceso de replicación, las nuevas partículas se sitúan cerca de la pared celular para salir de la célula. Estos eventos celulares se suceden varias veces, pero no son indefinidos; posteriormente, entran a actuar contra el virus las células defensoras del organismo (células T) y los anticuerpos para la eliminación del antígeno [23]. Puede decirse entonces, que la suma del micro-proceso que se sucede en millones de células expuestas al antígeno vacunal, constituye la manifestación externa que se visualiza y es lo que se denomina reacción post vacunal [17].

Por su parte Van eck y Goren [24] diseñaron un experimento con la finalidad de comparar la reacción postvacunal de una vacuna contra ENC cepa Ulster 2°C (enterotrópica) con la reacción generada por otras tres vacunas, utilizando aves con anticuerpos contra la enfermedad, concluyendo que en aves con anticuerpos maternos contra ENC, las reacciones post vacunales fueron menos evidentes que en aves libres de ellos. Los anticuerpos maternos contra la enfermedad inhiben las

reacciones postvacunales, pues estos interfieren con el la actividad de la vacuna impidiendo así una adecuada respuesta inmune primaria [27].

Las reacciones post vacunales indeseadas, posteriores a la administración de vacunas contra ENC son de importancia económica, especialmente en broilers. Estas reacciones pueden resultar en retardo del crecimiento, mortalidad e incremento a la susceptibilidad a colibacilosis [8]. Cuando una alteración de la salud determina una disminución en la ingesta de alimentos, se afectan los indicadores productivos, como la ganancia diaria de peso, la mortalidad y la conversión, la mortalidad es el principal detractor de la industria avícola, brotes violentos pueden alcanzar hasta un 75% de mortalidad en un lote [4, 17].

Beard y col. [6] compararon la eficiencia de vacunas vivas preparadas con B1B1 versus vacunas en base a cepa VG/GA para proteger durante un desafío con una cepa velogénica viscerotrópica de la ENC en pollos de engorde. Utilizaron para ello aves libres de patógenos específicos (SPF) resultando en un 80% de protección para la B1B1 y un 100% para VG/GA. Los autores recomiendan comparar la efectividad de estas vacunas en ensayos a campo, en presencia de anticuerpos maternos, aplicando las vacunas con los instrumentos y técnicas propias de explotaciones comerciales, esta recomendación se aplicó en el presente estudio cuyo objetivo básico fue evaluar el efecto de dos planes de vacunación contra la enfermedad de Newcastle, sobre la reacción posvacunal, ganancia de peso, conversión alimenticia y mortalidad en pollos de engorde de la línea Ross, bajo condiciones de campo en el estado Zulia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Centro Experimental de Producción Animal (CEPA) ubicado en el municipio La Cañada de Urdaneta del estado Zulia; zona clasificada como bosque muy seco tropical [10] con una temperatura promedio de

30°C y una precipitación que oscila entre 125 y 500 mm/año. Se utilizaron tres galpones de 17 metros de largo por 6 metros de ancho, cerrados con malla anti-pájaro y cortinas de polietileno a fin de garantizar una temperatura interna adecuada para la recepción y primeros días de los pollos (30°C). Los galpones se dividieron en dos filas de 4 cubículos de 2 x 1,5 mts, separados por un pasillo central de aproximadamente dos metros de ancho, todos los galpones fueron cubiertos con una cama de concha de arroz, cada corral contenía un comedero plástico, tipo tubular y un bebedero de galón para los primeros días, que luego fue sustituido por bebederos tipo Plasson.

Diseño del Experimento

El diseño corresponde a un experimento completamente aleatorizado, con medidas repetidas semanalmente y tres tratamientos con 8 repeticiones por tratamiento: T1= grupo control sin vacunación contra ENC; T2= plan A de vacunación contra ENC; T3= plan B de vacunación contra ENC (TABLA I). El 100% de las aves se vacunaron contra la enfermedad de Marek (Herpes virus de pavo) y Bronquitis infecciosa en incubadora, además de contra Gumboro al día 1, 7 y 14. Se asignó de manera aleatoria un galpón con 200 aves distribuidas en 8 corrales por cada tratamiento.

Previo a la vacunación en la incubadora, diez pollitos provenientes del lote a ser utilizado a lo largo del ensayo, fueron mantenidos durante 12 días en el laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia, para evitar contactos con cepas de ENC a campo, las aves fueron sangrados por punción cardiaca los días 1, 4, 8, y 12 para determinar por medio de la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI), según técnica descrita por Villegas [25], los títulos de anticuerpos maternos contra ENC. Esto se realizó con la finalidad de construir la curva de declinación de dichos anticuerpos y así poder evaluar el efecto de la presencia de los mismos sobre las vacunaciones durante las dos primeras semanas [15].

TABLA I
PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

Grupos	Nº de Aves	Tipo De Vacuna	Edad (En días)	Vía de Vacunación
T1 (Control)	200	Sin vacuna contra ENC	–	–
T2 (Plan A)	200	Viva B1B1	1	Aspersión
		Viva La sota	7	Aspersión
		Viva La sota	14	En agua
T3 (Plan B)	200	Viva (VGGA)+ Inactivada	1	Aspersión/ SC.
		Viva La sota	7	Aspersión
		Viva La sota	14	En agua

Todas las aves Fueron vacunadas contra Marek, Bronquitis infecciosa y Gumboro. B1B1: cepa viva Hitchner; VG/GA: Cepa enterotrópica Villegas y Glisson de la Universidad de Georgia. SC: Subcutáneo.

Reacción postvacunal

A lo largo de los primeros 21 días del ensayo, se observaron las aves para determinar la presencia de reacción respiratoria, estertores y efectos sobre su comportamiento general. Con la finalidad de determinar el Índice de Stress (IS), según adaptación de la prueba descrita por Alan y Borland [1], se estableció una observación sistemática (diariamente durante periodos de cinco minutos continuos) de una muestra de 25 aves por grupo (corral 1 en cada tratamiento); el baremo propuesto para la estimación del índice se muestra en la TABLA II.

La formula utilizada para determinar el IS corresponde a la sumatoria de las calificaciones resultantes de las observaciones dividida entre el número de observaciones:

$$IT = \frac{1}{N} \sum X$$

IT = Índice de stress

N = Numero de Observaciones (25 aves x 7 días= 175 observaciones semanales)

X = Puntos (según presencia de signos)

La implementación de estos cálculos permite establecer el grado de comprometimiento de las vías respiratorias del ave causado por la vacunación. La reacción es más fuerte mientras mas cercano a 1 se reporte el índice [1].

Parámetros productivos

Semanalmente se realizó el pesaje de cinco aves de cada uno de los corrales para establecer el peso promedio del corral, el alimento fue pesado y suministrado diariamente en la cantidad adecuada para cubrir los requerimientos de las aves según la edad. De manera que cada mañana antes del despacho se procedió a recoger y pesar el remanente de alimento, con la finalidad de estimar el consumo real, restando el alimento rechazado del ofertado. La conversión alimenticia se determinó dividiendo la ganancia de peso semanal entre el alimento consumido en el periodo.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados empleando un análisis de la varianza para un diseño completamente aleatorizado con medidas repetidas en el tiempo, a través del procedimiento General Lineal Model (GLM) disponible en el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) [22]. Todos los criterios relacionados con significancia fueron basados en una probabilidad de P < 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Prueba de HI aplicada a los sueros de las 10 aves separadas del lote, mostró los siguientes títulos de anticuerpos maternos contra ENC: al día de edad una media geométrica del título (MGT) de 89,8; al cuarto día 253,9; al octavo 80, descendiendo a 56,5 el decimosegundo día lo que representa un valor promedio de MGT de 120 a lo largo del periodo de vacunación (FIG. I).

TABLA II
BAREMO PARA LA ESTIMACIÓN DEL ÍNDICE DE STRESS

Signo	Puntos (X)
Sin Sintomatología	0 puntos
Estornudos	1 puntos
Estertores	2 puntos
Aves enfermas	3 puntos
Aves muertas	4 puntos

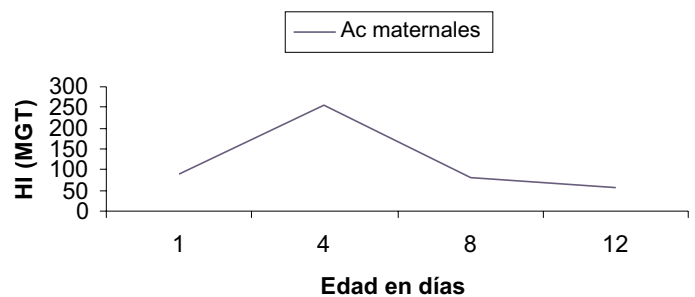


FIGURA 1. TÍTULOS DE ANTICUERPOS MATERNALES PROMEDIO CONTRA ENC POR INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION (HI) EN AVES SIN VACUNAR. DÍAS 1, 4, 8 Y 12.

Los niveles de anticuerpos maternos de las aves utilizadas en este estudio, son considerados altos por Pollard [19], quien reportó una marcada interferencia con la respuesta productiva e inmunológica en presencia de MGT mayores de 15. Por su parte Eidson y col. [9] calificaron como altos, niveles de anticuerpos por encima de 80 MGT, reportando una disminución en la resistencia a cepas velogénicas, en aves vacunadas en presencia de altos títulos de anticuerpos, lo cual incrementa la mortalidad disminuyendo el rendimiento productivo del lote.

Los resultados del IS para calificar el efecto de los distintos planes de vacunación se resumen en la TABLA III. Ninguno de los niveles de IS mostrados por las aves del ensayo difirieron significativamente entre tratamientos (P < 0,05), ni fueron lo suficientemente altos como para inducir alteraciones en las capacidades productivas del lote [8]. Los resultados probablemente se deben a la presencia de altos títulos de anticuerpos maternos contra la enfermedad, los cuales son capaces de generar una interferencia con la replicación de las vacunas a virus vivo [15, 17, 19]. Esto concuerda con lo reportado por Giambrone y Closser [16] quienes observaron una disminución en la reacción posvacunal en presencia de altos títulos de anticuerpos maternos y una mayor severidad en la reacción de aves SPF cuando se utilizaron cepas como la Sota y B1B1.

El promedio del IS total fue muy cercano a cero en el grupo control, lo que indica que la diferencia en los valores de IS que se observan en el T2 y T3 se manifiesta el efecto de los planes de vacunación implementados contra ENC. La media de IS para los 21 días de observación fue mayor en el T2 que en el T3, lo que se traduce en una menor reacción respiratoria a las cepas

TABLA III
ÍNDICE DE STRESS EN POLLOS DE ENGORDE EN RESPUESTA A LAS VACUNACIONES REALIZADAS LOS DÍAS 1, 7 Y 14 DEL ENSAYO

TRAT	CEPAS x TRAT Índice promedio días 1-7	Lasota aspersion índice promedio días 8-14	Lasota en agua índice promedio días 15-21	Total is 21 días
T1	0,06	0,02	0,02	0,03
T2	0,15	0,27	0,37	0,26
T3	0,02	0,24	0,29	0,18

Los valores en cada caso corresponden la puntuación según baremo dividido entre el número de observaciones realizadas. Ninguno de los tratamientos difiere significativamente entre si $P < 0,05$.

utilizadas en el plan de vacunación B. Durante la evaluación del IS hasta el día 7, que permite medir la respuesta a las vacunas aplicadas en la incubadora, se muestra como tendencia una reacción postvacunal mas marcada en el T2, grupo donde se utilizó una cepa neumotrópica (B1B1), mientras en el T3 la utilización de la combinación de una vacuna inactivada (que no induce replicación viral) y una cepa enterotrópica (que no se replica en el tracto respiratorio) genera una reacción postvacunal mínima para este periodo, los signos fueron mas evidentes a partir del día 3 independientemente del grupo. Estos resultados concuerdan Wetsbury y col [26] quienes reportaron la disminución de las reacciones postvacunales en aves vacunadas con cepas enterotrópicas. Por su parte Giambrone [15] reportó que la utilización de vacunas oleosas en lugar de vacunas vivas para la inmunización reproductoras permite controlar las reacciones postvacunales indeseadas. Las observaciones realizadas entre los días 8 al 14 y 15 al 21, permiten determinar el IS inducido por la aplicación de vacunas en base a cepa Lasota por aspersion y en agua respectivamente. Los valores que se observan en la TABLA III para los mencionados periodos evidencian que no hay diferencias, pues la respuesta de los grupos tratados fue muy homogénea.

Los parámetros productivos evaluados: ganancia de peso, conversión alimenticia y mortalidad no fueron afectados significativamente ($P < 0,05$) por ninguno de los tratamientos, ni sus interacciones. En la TABLA IV se muestran los indicadores de productividad de las aves del ensayo.

En las FIGS. 2 y 3 se muestran las variaciones de peso vivo y la conversión semanal de las aves, la homogeneidad observada entre grupo control y las aves vacunadas contra ENC, demuestran que no existe un efecto causado por la vacunación sobre la ganancia de peso y el consumo de alimento. Los resultados del presente ensayo relativos a la respuesta productiva, son inesperados pues se asume que las aves sometidas a un mayor stress el día 1 deben tener más problemas en responder a las exigencias productivas a nivel de campo [20]. Sin embargo, los resultados demostraron que las aves del T3 son capaces de sobreponerse adecuadamente al stress generado a nivel de la incubadora por las dos aplicaciones parenterales de biológicos, ya que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, La respuesta observada difiere de

TABLA IV
PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE POLLOS DE ENGORDE SOMETIDOS A DOS PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA NEWCASTLE

Tratamiento	Peso	Conversión	Mortalidad
T1	2,079	1,58	4,6%
T2	2,145	1,59	5,4%
T3	2,192	1,45	4,7%

Peso y conversión acumulada a los 42 días. Ninguno de los tratamientos difiere significativamente entre si $P < 0,05$.

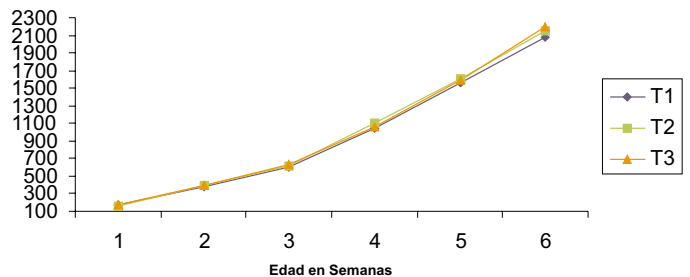


FIGURA 2. VARIACIÓN SEMANAL DE PESO VIVO EN AVES SOMETIDAS A DOS PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA ENC.

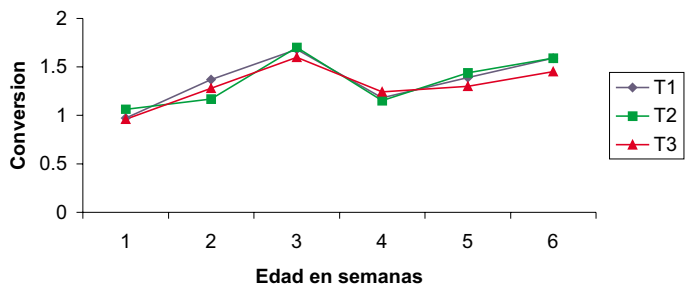


FIGURA 3. CONVERSIÓN SEMANAL EN AVES SOMETIDAS A DOS PLANES DE VACUNACIÓN CONTRA ENC.

lo reportado por Puvapoliroid y Taxton [20] así como por Mostl y Palma [18] quienes indicaron que al someter a las aves a

factores estresantes, durante la primera etapa del periodo de cría, se estimula la secreción de sustancias moduladoras del stress (glucocorticoides y catecoláminas) las cuales afectan negativamente la productividad.

CONCLUSIONES

1. Bajo condiciones de campo en el estado Zulia, ninguna de las variables productivas estudiadas (ganancia de peso, conversión alimenticia y mortalidad) difirieron significativamente debido a los tratamientos, lo que indica que ni la cepa vacunal administrada, ni el manejo durante el proceso de vacunación contra ENC, afectaron la respuesta productiva del lote.
2. Las reacciones postvacunales inducidas por los planes de vacunación evaluados y mediadas como el Índice de stress no difieren entre tratamientos, considerándose dentro de los parámetros normales.

RECOMENDACIONES

- Realizar una evaluación de la respuesta serológica y el grado de protección conferido por cada uno de los planes de vacunación estudiados, mediante la implementación de un desafío experimental con una cepa velogénica viscerotrópica de ENC.
- Determinar la relación costo beneficio de las estrategias de vacunación implementadas considerando los niveles de protección real y el costo de los programas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALAN, G.; BORLAND, R. Characterization of Newcastle Disease Vaccines Pathogenicity. Stress Index. **Avian Dis.** 37: 222-225, 1979.
- [2] ALBA, M; ICOCHEA, E; SILVA, A; VIDAL, O. Protección vacunal viva- oleosa en pollos Broilers contra una cepa velogenica viscerotropa del virus de la enfermedad de newcastle. **Memorias del XIV Congreso latinoamericano de avicultura.** Lima 18 al 22 de Septiembre Peru, 45-46 pp, 1999.
- [3] ALEXANDER, D. Newcastle disease. **British Poultry Scien.** 42:5-22, 2001.
- [4] ALEXANDER, D. Newcastle disease. In: **Diseases of Poultry** 10th Ed. 115-126 pp, 1997.
- [5] ANDRADE, L.; FERNANDEZ, R; RIVERA, S. Evaluación de diferentes métodos de vacunación contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorde en el estado Zulia, Venezuela. **Congreso Latinoamericano de Avicultura.** Acapulco, 26- 30 Abril, Mexico. 36-44 pp, 1986.
- [6] BEARD, C.; VILLEGAS, P.; GLISSON, R. Comparative Efficacy of the B-1 and VG/GA Vaccine Strains against Velogenic Viscerotropic Newcastle Disease Virus in Chickens. **Avian Dis.** 32: 196-200, 1993.
- [7] CARABAÑO, J. Efecto de Tres Niveles (100, 200 y 300 ppb) de Aflatoxina B₁ sobre los Pollos de Engorde Durante la Etapa de Iniciación (0 a 4 semanas). FCV. UCV. (Trabajo de ascenso) 183 pp, 1999.
- [8] DE LOS RIOS, G. Reacciones Post-vacunales. **Memorias del V Congreso de Ciencia Veterinarias.** Valencia 19- 23 Septiembre. Venezuela. 373-380 pp, 1996.
- [9] EIDSON, C.; THAYER, S.; VILLEGAS, P.; KLEVEN, S. Vaccination of Broiler Chickens from Breeders Folks Immunized with Live or Inactivated oil Emulsion Newcastle Disease Vaccine. **Poult. Sci.** 61(8):1621-9, 1982.
- [10] EWEL, J.; MADRIZ, A.; TOSI, Y. **Zonas de Vida de Venezuela.** MAC- FONAIAP. 2^{da} Ed. Caracas. 266 pp, 1968.
- [11] FERNÁNDEZ, G.; NEGRON, G.; ISEA, G.; SÁNCHEZ, E. Reporte de Análisis Cuantitativo de Aflatoxinas por el Método Elisa en Muestras de Materias Primas de Alimento Balanceado para Aves Provenientes de una Planta Ubicada en el Municipio Mara del Estado Zulia, Venezuela. **Rev Científ, FCV-LUZ.** X (1): 63-68, 2000.
- [12] FERNÁNDEZ, R. La enfermedad de Newcastle. Consecuencias y Repercusión Económica **Memorias del Curso de Actualización en Patología Aviar.** Maracaibo, 12 Marzo. Venezuela. 55-59 pp, 2000.
- [13] FERNANDEZ, R.; SOL, J.; RAMÍREZ, A. La enfermedad de Newcastle, Control y Experiencias de campo. **Memorias del I Seminario de Patología Aviar.** Maracaibo 20 y 21 de Octubre. Venezuela 25 -28 pp, 2002.
- [14] GELB, J.; KING, J.; WISNER, A. Attenuation of a Lentogenic Newcastle Disease Virus Strain B-1 by Cold Adaptation. **Avian. Dis.** 40: 605-612, 1996.
- [15] GIAMBRONE, J. Laboratory Evaluation of Newcastle Disease Vaccination Programs for Broiler Chickens. **Avian. Dis.** 29: 479-487, 1984.
- [16] GIAMBRONE, J.; CLOSSER, J. Efficacy of live vaccines against serologic subtype of infections bursal diseases virus. **Avian Dis.** 34:7-11, 1990.
- [17] MONTIEL, E. Enfermedades Respiratorias de las Aves. **Memorias del I Seminario Zuliano de Patología Aviar.** Maracaibo, Venezuela, 20 -21 de Octubre. 29-32 pp, 2002.

- [18] MOSTL, E.; PALME, R. Hormones as Indicators of Stress. **Dom Anim Endocrinol.** 23:67-74, 2002.
- [19] POLLARD, B. Immune response to simultaneous vaccination of day-old chickens with live and inactivated oil-based Newcastle disease vaccines. **Onderstepost Vet Res.** 49 (2):123-5, 2000.
- [20] PUVADOLPIROD, S.; THAXTON, J. Model of physiological Stress in Chicks. **Poult. Sci.** 79:363-369, 2000.
- [21] SOLANO, W.; GIAMBRONE, J., WILLIAMS, L. Effect of Maternal Antibody on Timing of initial Vaccination of chicks, against Infectious Bursal Disease Virus. **Avian Dis.**30:648-652. 1986.
- [22] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS) User Guide. **SAS**® Cary N. C. USA Version 2,02, 1986.
- [23] STURKIE, P. Body Fluids: Blood. In: **Sturkie's Avian Physiology.** Ed Springer-Verlag. New York. 102-120 pp, 1986.
- [24] VAN ECK, J.; GOREN, E. An Ulster 2C Strain derived Newcastle Disease Vaccine: Vaccinal Reaction in comparison with other lentogenic Newcastle Disease Vaccines. **Avian Path** 20:497-507. 1991.
- [25] VILLEGAS, P. Hemagglutination Inhibition (HI) In: **Avian Virus Diseases Laboratory Manual.** The University of Georgia 30-34 pp. 1995.
- [26] WETSBURY, H.; PARSONS, G.; ALLAN, W. Comparison of the Immunogenicity of Newcastle Disease Virus Strains V4 Hitchner B1B1 and La Sota in Chickens. Test in Chickens with maternal antibody to the virus. **Aust. Vet. J.** 61(1):10-13 1984.
- [27] WINTERFIELD, R.; DHILLON, A.; ALBY, L. Vaccination of chickens against Newcastle disease with live and inactivated Newcastle disease virus. **Poult. Sci.** 59(2): 64-69. 1980.
- [28] ZANDER, D.; BERNUDEZ, A.; MALLISON, E. Principles of Diseases Prevention Diagnosis and Control, In: **Diseases of Poultry** 10th Edition 3-46 pp 1997.