

EVALUACIÓN DEL COMPLEJO VACUNAL ANTÍGENO-ANTICUERPO DE LA ENFERMEDAD DE GUMBORO ADMINISTRADO *in ovo* EN POLLOS DE CARNE FRENTE A UN DESAFÍO EXPERIMENTAL CON LA CEPA F52/70

EVALUATION OF THE ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX VACCINE OF GUMBORO DISEASE ADMINISTERED *IN OVO* IN BROILER CHICKENS CHALLENGED WITH F52/70 STRAIN

John Guzmán G.¹, Mónica Alba Ch.¹, Eliana Icochea D.^{1,2}, Alberto Manchego S.³, Rosa Perales C.⁴, Susana Fribourg C.⁵

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la protección y seguridad del complejo vacunal antígeno-anticuerpo administrado *in ovo* frente a un desafío experimental con la cepa F52/70 de la Enfermedad de Gumboro en pollos de carne. Se utilizaron 450 pollos de la línea Cobb Vantress, de un día de edad, distribuidos en tres grupos: Grupo A, vacunado, vía agua de bebida, a los 9 días con la cepa intermedia suave tipo Lukert y revacunado a los 19 días con la cepa intermedia intermedia 2512; grupo B, vacunado vía *in ovo* a los 18 días de incubación con el complejo vacunal antígeno-anticuerpo; y grupo C, control no vacunado. A los 35 días de edad, 20 aves de cada grupo fueron desafiadas, vía ocular, con la cepa F52/70 de la enfermedad de Gumboro. La seguridad del complejo vacunal se evaluó semanalmente hasta los 47 días de edad mediante la determinación del índice bursal, lesiones macroscópicas, lesiones histopatológicas de bursa y respuesta serológica. Las lesiones post desafío se caracterizaron por edema y hemorragias petequiales en la bursa. El grupo B presentó la mejor protección con 75% comparado con el grupo A (68%) y el grupo control (30%). Las lesiones post desafío se caracterizaron por edema y hemorragias petequiales en la bursa. En las aves no desafiadas no se observó diferencias significativas entre los grupos A y B para el índice bursal y lesiones histopatológicas hasta los 28 días de edad; sin embargo, a partir de los 35 días el grupo A fue significativamente diferente de los grupos B y C ($p < 0.05$). Al final del estudio el grupo A obtuvo títulos de 1948 y 2047 más de anticuerpos que el grupo B y el control, respectivamente.

Palabras clave: complejo vacunal antígeno-anticuerpo, enfermedad de Gumboro, cepa 2512, índice bursal, atrofia bursal, edema, depleción linfoide, respuesta humoral, respuesta celular

¹ Laboratorio de Patología Aviar, ³Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, ⁴Laboratorio de Embriología, Histología, y Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

² E.mail: eliana.icochea@gmail.com

⁵ AVEAGRO S.A., Lima

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the protection and safety for *in ovo* vaccination against Infection Bursal Disease. Cobb Vantress broilers of one day of age (n=450) were distributed in three groups: Group A, vaccinated at 9 and 19 days with two commercial live vaccines containing Lukert and 2512 strains, respectively; group B, vaccinated *in ovo* with the antigen-antibody complex at 18 days of incubation; and group C, unvaccinated. At 35 days of age, 20 birds from each group were challenged, ocular via, with the F52/70 strain of Gumboro disease. The security of the complex vaccine was evaluated weekly until 47 days of age by determining the bursal index, gross lesions, histopathological lesions of the bursa, and serological response. Group B showed the best protection with 75% as compared with groups A (68%) and C (30%). Injuries after challenge were characterized by swelling, bleeding, and petechiae in the bursa. In non-challenged birds were none significant differences between groups A and B for the index and bursal histopathology lesions until 28 days of age; however, group A differed from groups B and C at 35 days of age ($p<0.05$). At the end of the study, group A had 1948 and 2047 antibodies titers higher than groups B and control respectively.

Key words: antigen-antibody complex vaccine, Gumboro diseases, 2512 strain, bursal index, bursal atrophy, edema, lymphoid depletion, humoral response, cellular response

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) es una amenaza permanente para la industria avícola, debido a las repercusiones en el rendimiento económico de los planteles de reproductoras y pollos de carne. La EIB es considerada como la principal causa de inmunosupresión, ocasionando un incremento en la susceptibilidad de las aves domésticas a otros agentes infecciosos como la enfermedad de Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Marek, e infecciones bacterianas (Rosales, 2000; Montiel, 2004).

La enfermedad es de distribución mundial, con mayor incidencia en las grandes áreas de producción avícola; es altamente contagiosa y afecta a los pollos hasta las 6 semanas de edad causando una morbilidad de hasta 100% y una mortalidad que varía de 20 a 30%. La forma subclínica es la más importante, se presenta en aves hasta las tres semanas de edad, y aunque no presenta signos clínicos evidentes, se caracteriza por una severa inmunodepresión que se manifiesta en

la incidencia de otras enfermedades. La forma clínica se observa en aves mayores de 3 semanas, de aparición súbita con mortalidad elevada a los 5 a 7 días post infección, y se caracteriza por diarrea, decaimiento y deshidratación, seguida de una rápida recuperación de los sobrevivientes (Lukert y Saif, 2003).

El control y prevención de la enfermedad de Gumboro continúa siendo un desafío en la producción avícola y depende de la implementación de un programa integral de bioseguridad, vacunación y diagnóstico serológico (Montiel, 2004). La inmunización pasiva ha tenido un éxito parcial, debido a la poca uniformidad de anticuerpos maternos y fallas en la vacunación; sin embargo, es el principal método usado para proteger a los pollitos en las primeras semanas de vida (Saif, 1999).

Los programas de vacunación disponen de alternativas a través del uso de vacunas vivas, clasificadas como calientes, intermedias y suaves, de acuerdo a su capacidad para inducir daño en la bursa de aves SPF y la

capacidad de infectar en presencia de niveles de anticuerpos altos, moderados o bajos, respectivamente. La necesidad de proteger a las aves de infecciones tempranas y la variación en la eficacia obtenida por vacunas convencionales ha hecho necesario que se desarrollen nuevas tecnologías en la protección contra la EIB; es así, que una nueva alternativa es el uso de la vacunación *in ovo* usando un complejo vacunal antígeno-anticuerpo, teniendo en cuenta que el pollo no eclosionado es inmunocompetente y puede desarrollar una respuesta inmune temprana y eficaz (Gagic *et al.*, 1999; Whitfill *et al.*, 2002). El objetivo del presente estudio fue evaluar la protección del Complejo Vacunal Antígeno-Anticuerpo administrado *in ovo* frente a un desafío experimental con la cepa F52/70 de la Enfermedad de Gumboro en pollos de carne.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio

El estudio se llevó a cabo en el galpón experimental e instalaciones del Laboratorio de Patología Aviar y en el Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Animales y Vacunas

Se utilizaron 450 pollos BB de carne machos de la línea Cobb Vantres, distribuidos en forma uniforme en tres grupos experimentales y criados en ambientes separados. Las aves recibieron el mismo tipo de alimento y agua *ad libitum* en la etapa de crianza. El alimento cubrió los requerimientos nutricionales necesarios.

Se usaron vacunas comerciales a virus vivo contra la enfermedad de Gumboro, conteniendo las cepas tipo Lukert (intermedia suave), 2512 (intermedia intermedia) y el complejo vacunal antígeno-anticuerpo usando una cepa 2512 (intermedia fuerte).

Procedimiento Metodológico

El grupo A fue vacunado vía agua de bebida a los 9 días con la cepa intermedia suave tipo Lukert y revacunados a los 19 días con la cepa intermedia intermedia 2512; el grupo B fue vacunado vía *in ovo* a los 18 días de incubación con aguja calibre 20 y 0.1 ?l del inóculo en la cavidad amniótica con el complejo vacunal antígeno-anticuerpo; y el grupo C quedó como control no vacunado.

Al día 35 de edad, 20 aves de cada grupo se colocaron en un mismo ambiente y fueron desafiados con la cepa F52/70, vía ocular (60 µL/dosis). Al tercer día post desafío se sacrificó y realizó la necropsia a 20 animales de cada grupo para determinar lesiones macroscópicas (edema y hemorragia) y microscópicas. Los signos clínicos (depresión y diarrea) y la mortalidad fueron evaluados durante los 3 días post desafío.

Evaluación Macroscópica

Se sacrificaron 12 aves de cada grupo por semana hasta los 47 días de edad, para evaluar el estado de la bursa y determinar el índice bursal [(Peso de la bursa / Peso corporal del ave) x 1000], según Giambrone (1987), donde:

- ? 1.5 - 3.5 = Bursa normal
- ? 0.5 - 1.5 = Atrofia bursal
- ? ≤0.5 = Severa atrofia bursal

Evaluación Microscópica

Se tomaron 5 muestras de bursa al azar de las aves sacrificadas semanalmente y post desafío para la evaluación microscópica. Se hizo una valoración cualitativa de las lesiones de la bursa a nivel del epitelio de las plicas, folículos linfoides y tejido conectivo, empleando una calificación de daño bursal de 1 a 4 (adaptado de Mohamed *et al.*, 1996 y Skeeles, 2001):

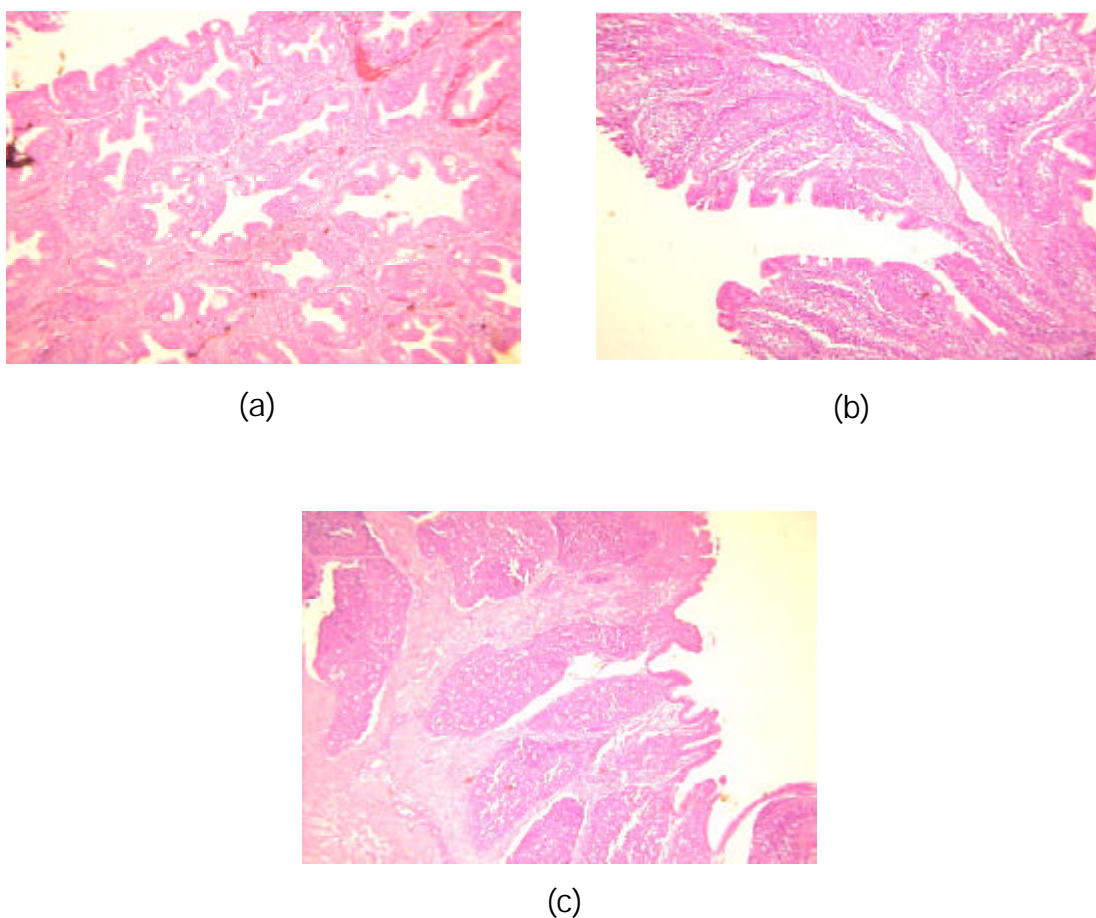


Figura 1. Lesiones microscópicas en pollos de carne a los 3 días post desafío con la cepa F52/70. (a) Formaciones quísticas y hemorragias en el tejido bursal de aves del grupo A. (b) Moderada depleción linfoide y presencia de repliegues del epitelio de revestimiento (flechas) en bursas de aves del grupo B. (c) Severa depleción linfoide, necrosis y severa fibroplasia (flechas).

- ? Grado 1 = No hay lesiones (sin cambios significativos en el tejido bursal)
- ? Grado 2 = Existe poca depleción de células linfoides en pocos folículos (30%)
- ? Grado 3 = Hay una moderada atrofia y depleción de células de los folículos (31-75%)
- ? Grado 4 = Severa necrosis y atrofia en todos los folículos (>75%)

El valor final de las lesiones bursales de cada grupo se obtuvo sacando el promedio de las calificaciones de las bursas evaluadas.

Evaluación Serológica

Se tomaron muestras de sangre vía punción alar para la evaluación de los títulos de anticuerpos contra el virus de EIB de 25 aves por grupo al día 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 y 47, mediante la prueba de ELISA con un kit comercial (IDEXX).

Análisis Estadístico

Se utilizó el análisis de varianza con un diseño al azar con tres tratamientos para evaluar el índice bursal y los niveles de anticuerpos entre los grupos experimentales.

RESULTADOS

Los signos clínicos observados entre las 24 y 72 horas post desafío en los grupos experimentales se caracterizaron por la presencia de diarrea y depresión. El grupo C, no vacunado, presentó el mayor porcentaje de diarrea (70%) y depresión (62%) post desafío. No se observó mortalidad en ninguno de los grupos (Cuadro 1).

Las lesiones macroscópicas en las aves desafiadas se caracterizaron por la presentación de hemorragias y edema con presencia de material gelatinoso. Las aves del grupo C presentaron el mayor porcentaje de lesiones agudas (75% con edema y 40% con hemorragias) (Cuadro 1).

Las aves desafiadas de los grupos A y C presentaron lesiones más severas de bursa (3.5 y 3.1, respectivamente) en comparación al grupo B desafiado (2.2). Las lesiones histológicas se caracterizaron por depleción linfocítica, hiperplasia, fibroplasia y formación de quistes (Fig. 1).

En las aves no desafiadas se observó que el grupo B presentó el mayor grado de lesión bursal durante los primeros 28 días, en comparación a los grupos A y C (Cuadro 2). El grupo A presentó las lesiones más severas a los 35 y 47 días.

Los valores de índice bursal obtenidos durante las primeras cuatro semanas, en los tres grupos experimentales, correspondieron a una calificación de bursa normal; presentando atrofia a partir de la quinta semana de edad en el grupo A (Cuadro 2). Los niveles de anticuerpos maternos al primer día de edad fueron similares entre los grupos experimentales. Los valores fueron disminuyendo con el tiempo, pero en los grupos A y B se apreció un ligero incremento a los 35 días de edad; sin embargo, solo en el grupo A hubo un incremento significativo en las dos últimas semanas (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

Los signos clínicos observados en las aves desafiadas se caracterizaron por la presentación de depresión y diarrea, siendo más severos en el grupo control. Signos clínicos similares son descritos en la literatura, además de otros como anorexia, postración y deshidratación que ocurre en pollos de 3 a 6 semanas de edad (Lukert y Saif, 2003). No hubo casos de mortalidad por Gumboro, lo cual concuerda con otros estudios utilizando la misma cepa de desafío (Cardoso, 1999; Rautenschlein *et al.*, 2003; Pérez, 2005). Otros estudios empleando la vacunación *in ovo* para EIB presentaron signos clínicos similares o más leves a los descritos en el presente estudio (Coletti *et al.*, 2001; Corley *et al.*, 2002). No obstante, la presentación y severidad de los signos clínicos se encuentran asociadas al grado de protección de las aves y la patogenicidad de la cepa de desafío (Banda y Villegas, 2002; Hafez, 2003; Lukert y Saif, 2003).

No se observaron lesiones macroscópicas al momento de la necropsia en el grupo B vacunado con el complejo antígeno-anticuerpo; sin embargo, en la evaluación microscópica de las bursas de las aves desafiadas se observaron lesiones significativas de grado 2 a 3, especialmente en los grupos A y C. Hallazgos similares fueron encontrados por Pérez (2005) en aves desafiadas a los 32 días de edad con la cepa F52/70. Asimismo, los trabajos realizados por Al Natour *et al.* (2004) empleando cepas vacunales intermedias y variantes frente a desafíos experimentales entre la 2ª y 5ª semana de edad describen lesiones similares, pero con una mayor severidad en relación a la exposición más temprana de la cepa de desafío. Por otro lado, Giambrone *et al.* (2001), utilizando la técnica de la vacunación *in ovo* para la evaluación de cepas intermedias, observaron que solo un 13% de aves fue susceptible al desafío de una cepa estándar, mientras que el 40% fue susceptible al desafío de una cepa variante de la EIB.

Cuadro 1. Pollos de carne¹ machos desafiados con la cepa F52/70: mortalidad y signos clínicos entre las 24 y 72 horas post desafío y lesiones macroscópicas de la bursa a los 3 días post desafío, expresado en porcentaje de ocurrencia

		Grupo A	Grupo B	Grupo C
Mortalidad		0	0	0
Signos clínicos	Depresión	30	25	62
	Diarrea	32	25	70
Lesiones en bursa	Edema	15	0	75
	Hemorragia	20	0	40

¹ Grupo A: vacunado a los 9 días con la cepa tipo Lukert y revacunados a los 19 días con la cepa 2512; Grupo B: fue vacunado vía *in ovo* a los 18 días de incubación

Cuadro 2. Lesiones microscópicas en la bursa e índice bursal en pollos de carne vacunados contra la Enfermedad de Gumboro

Grupo ¹		Edad (días)						
		7	14	21	28	35	42	47
Lesiones en bursa ²	A	1.32	1.56	1.18	1.75	3.26	2.52	3.73
	B	2.12	2.25	2.32	2.53	2.16	3.10	2.16
	C	1	1.5	1.25	1.15	1.51	2	3.11
Índice bursal ³	A	1.97	2.09	2.49	2.48	1.07	0.56	0.54
	B	1.96	1.67	2.12	1.83	1.71	1.71	1.78
	C	1.70	1.93	2.78	2.25	2.22	2.16	2.16

¹ Grupo A: vacunado a los 9 días con la cepa tipo Lukert y revacunados a los 19 días con la cepa 2512; Grupo B: vacunado vía *in ovo* a los 18 días de incubación con el complejo vacunal antígeno-anticuerpo; Grupo C: control no vacunado

² Adaptado de Mohamed *et al.* (1996) y Skeeles (2001)

³ Según Giambone (1987): 1.5-3.5 = bursa normal; 0.5-1.5 = atrofia bursal; 0.5 = severa atrofia bursal

Cuadro 3. Niveles de anticuerpos (PGT) en pollos de carne¹ vacunados contra la Enfermedad de Gumboro pero sin desafío experimental

Edad (días)	1	7	14	21	28	35	42	47
Grupo A	4954	2448	1714	448	286	477	2798	2123
Grupo B	5332	2357	1377	620	211	429	205	175
Grupo C	4954	2748	1410	481	170	115	49	76

¹ Grupo A: vacunado a los 9 días con la cepa tipo Lukert y revacunados a los 19 días con la cepa 2512; Grupo B: vacunado vía *in ovo* a los 18 días de incubación con el complejo vacunal antígeno-anticuerpo; Grupo C: control no vacunado

PGT: Promedio Geométrico Total

En las primeras semanas de edad, el índice bursal fue incrementándose hasta llegar a sus valores máximos en la 4^a semana, desarrollo considerado como normal (Giambrone, 1987). La atrofia bursal observada en la 5^a semana es similar a la observada en otros estudios en aves vacunadas con la cepa intermedias 2512 (Gallardo, 1998), aunque hay otros estudios que demuestran una tendencia a la atrofia a la 4^a semana de edad (Winterfield *et al.*, 1981). Asimismo, Colletti *et al.* (2001) y Corley *et al.* (2002), empleando complejos vacunales antígeno-anticuerpo para la enfermedad de Gumboro, describen valores ligeramente menores a los 28 y 35 días de edad, pero con calificación de bursa normal; sin embargo, Haddad *et al.* (1997) y Whitfill *et al.* (2002), reportan valores de índice bursal de 1.01 y 0.82, compatibles con atrofia, a los 31 y 35 días de edad, respectivamente. Estas diferencias están relacionadas al momento de replicación del virus vacunal en la bursa, la patogenicidad de la cepa vacunal, la vía de administración, la manipulación y las características de aislamiento de la cepa.

La evaluación histopatológica muestra que el grupo B presentó un mayor grado de lesiones bursales durante las primeras cuatro semanas en comparación al grupo A, lo cual se puede asociar a una constante actividad del virus vacunal. Winterfield *et al.* (1981) describen lesiones de ligera a moderada intensidad producidos por cepas vacunales 2512. Asimismo, Giambrone *et al.* (2001) encontraron que aves vacunadas *in ovo* con cepas intermedias mostraron severo daño bursal a partir de la 1^a y 3^a semana de edad en aves SPF y con anticuerpos maternos, respectivamente. Similares resultados se obtuvieron en pollos comerciales vacunados con el complejo vacunal antígeno-anticuerpo (Haddad *et al.*, 1997; Gagic *et al.*, 1999).

Los anticuerpos maternos fueron disminuyendo hasta la 4^a semana, momento en que aun no se observaba la seroconversión de los grupos vacunados. El incremento de los niveles de anticuerpos a los 35 días de

edad en los grupos A y B se puede relacionar con una respuesta vacunal; sin embargo, en el grupo B se aprecia que no hubo una buena seroconversión, cayendo los niveles de anticuerpos hasta un PGT de 175 en comparación al PGT de 2123 del grupo A. Similares resultados fueron obtenidos por Corley *et al.* (2001) en pollos comerciales no desafiados vacunados *in ovo* con el complejo vacunal antígeno-anticuerpo y revacunado con la cepa 2512. Asimismo, en aves desafiadas a los 21 días de edad, vacunadas *in ovo* con una cepa intermedia, se observaron resultados similares con niveles de anticuerpos menores a 500 (Coletti *et al.*, 2001).

Dado que el mecanismo de acción de los complejos vacunales antígeno-anticuerpo de la EIB no se encuentra totalmente esclarecido, se puede determinar a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo que la protección observada en el grupo A estaría relacionada a una estimulación activa de la respuesta inmune mediada por células o al mecanismo de acción sobre los centros germinales de la bursa y otros órganos linfoides, con una participación activa de macrófagos, células reticulares y células dendríticas que responden a receptores de la vía del complemento y fracción Fc de membrana.

CONCLUSIONES

- ? Los dos programas de vacunación indujeron una buena protección frente al desafío con la cepa F52/70 de la enfermedad de Gumboro, en comparación con el grupo control no vacunado, donde se observaron signos clínicos y lesiones bursales más severos.
- ? El programa de la vacunación *in ovo*, empleando el complejo vacunal antígeno-anticuerpo, parece ser seguro, eficaz y conveniente para la avicultura, porque presentó una mejor protección para la bursa que el programa usando vacunas intermedias.

LITERATURA CITADA

1. **Al Natour MQ, Ward LA, Saif YM, Brown BS, Keck KL. 2004.** Effect of different levels of maternally derived antibodies on protection against Infectious Bursal Disease virus. *Avian Dis* 48: 177-182.
2. **Banda A, Villegas P. 2002.** Enfermedad infecciosa de la bolsa. *Industria Avícola, Colombia* 49(7): 22-25.
3. **Cardozo BL. 1999.** Estudio clínico del sistema inmunocompetente en tres parvadas de pollo de engorda. En: IV Jornada Médico Avícola. México DF: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.
4. **Coletti M, Rossi ED, Franciosini MP, Pasamonti F, Taconi G, Marini C. 2001.** Efficacy and safety of an Infectious Bursal disease virus intermediate vaccine in ovo. *Avian Dis* 45:1036-1043.
5. **Corley M, Giambrone J, Dormitorio T. 2001.** Detection of infectious bursal disease vaccine viruses lymphoid tissues In ovo vaccination of specific-pathogen-free-embryos. *Avian Dis* 45: 897-905.
6. **Corley M, Giambrone J, Dormitorio T. 2002.** Evaluation of the immune response and detection of Infectious Bursal Disease viruses by reverse transcriptase polimerase (RTP) and ELISA in ovo vaccination. *Avian Dis* 46: 803-809.
7. **Gagic M, Hill S, Sharma J. 1999.** In ovo vaccination of specific pathogen free chickens with vaccines containing multiple agents. *Avian Dis* 43: 293-301.
8. **Gallardo WL. 1998.** Evaluación serológica e histopatológica de pollos broilers vacunados contra la enfermedad de Gumboro a los doce días de edad. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 54 p.
9. **Giambrone J. 1987.** Evaluación y relaciones morfométricas en la enfermedad infecciosa de la Bursa como método de diagnóstico. The American Association of Avian Pathology. Georgia, USA. *Bull Tech* 23: 24-38.
10. **Giambrone T, Dormitorio T, Brown T. 2001.** Safety and efficacy of in ovo administration of Infectious Bursal Disease viral vaccines. *Avian Dis* 45: 144-148.
11. **Hadad E, Whitfill C, Aviakan A, Ricks C, Andrews P, Thoma J, Wakenel P. 1997.** Efficacy of a novel Infections Bursal Disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis* 41: 882-889.
12. **Hafez H. 2003.** Infección de la bolsa de Fabricio. Evolución de la enfermedad de Gumboro e innovaciones para su control. En: XIV Curso de Actualización Avimex. México DF.
13. **Lukert PD, Saif YM. 2003.** Infectious Bursal Disease. In: Calnek BW, Beard CW, Yoder HW, Reid WH, Barnes HJ (eds). *Diseases of poultry*. 11th ed. Iowa: Iowa State University Press. p 161-174.
14. **Montiel 2004.** Interacciones entre agentes inmunosupresores: Anemia Infecciosa Aviar, Gumboro y Marek. En: II Seminario Internacional AMEVEA PERÚ. Lima: Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Aves.
15. **Mohamed K, Al-Natour M, Ward L, Saif Y. 1996.** Pathogenicity, attenuation, and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 40: 567-571.
16. **Pérez CM. 2005.** Evaluación de dos programas de vacunación que contienen la cepa 2512 de la enfermedad de Gumboro frente a la infección experimental con la cepa F52/70. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 60 p.
17. **Rautenschlein S, Hung-Yueh Y, Sharma J. 2003.** Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate, and virulent strains of classic Infectious Bursal Disease virus. *Avian Dis* 47: 66-78.
18. **Rosales G. 2000.** Control actual de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa. En:

- Memorias XI Seminario Internacional de Patología Aviar. Georgia, USA. p 468-481.
- 19. Saif YM. 1999.** Control y prevención de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa. En: XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Maracaibo, Venezuela.
- 20. Skeeles B. 2001.** Score de lesiones bursales. Laboratorios Shering-Plough. EEUU. Boletín Informativo. 2 p.
- 21. Winterfield R, Dhillon, A, Thacke H. 1981.** Characteristics of apparent derivatives of the 2512 strain of infectious bursal disease virus when used as vaccines. Avian Dis 25: 900-910.
- 22. Whitfill C, Aviakan A, Haddad E, Wakenel P. 2002.** Vacunas con el complejo virus-anticuerpo: Presente y futuro. Avicultura Profesional 20(1): 17-22.