

Rev Inv Vet Perú 2012; 23(4): 477-483

## NIVEL DE PROTECCIÓN DE UNA VACUNA INTERMEDIA CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO EN AVES DE POSTURA

### PROTECTION LEVEL OF AN INTERMEDIATE VACCINE AGAINST GUMBORO DISEASE IN LAYING HENS

Natalia León R.<sup>1</sup>, Eliana Icochea D.<sup>1,3</sup>, Rosa González V.<sup>1</sup>, Rosa Perales C.<sup>2</sup>

#### RESUMEN

Se evaluó la protección conferida por una vacuna contra la enfermedad de Gumboro en aves de postura comercial. Se utilizaron 300 aves Isa Brown de un día de edad, distribuidas en tres grupos de 100 aves cada uno. Los grupos A y B fueron vacunados dos veces, a los 9 y 24 días de edad, con una cepa intermedia-intermedia (2512), y el grupo C no fue vacunado. Los grupos B y C fueron desafiados a los 32 días de edad, utilizando la cepa F 52/70 por vía ocular. La patogenicidad de la cepa vacunal fue evaluada los días 1, 35 y 45 de edad mediante el índice bursal, la relación bursa/bazo y las lesiones microscópicas de bursa, bazo y timo; además, se determinaron los títulos de anticuerpos por la prueba de ELISA indirecta. Solo el grupo C presentó mortalidad y signos clínicos de Gumboro durante el estudio. Los valores de índice bursal en los tres grupos fueron compatibles con atrofia bursal; así mismo, las lesiones histopatológicas en los tres grupos fueron severas. A los 45 días de edad, el grupo C presentó la mayor seroconversión (3997), mientras que los grupos vacunados A y B presentaron títulos similares de anticuerpos. Se concluye que, si bien, el uso de una vacuna intermedia a los 9 y 24 días de edad ocasiona daño bursal compatible con atrofia, induce una buena protección contra la enfermedad de Gumboro.

**Palabras clave:** virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV), vacunación, vacuna intermedia-intermedia

#### ABSTRACT

This study evaluated the protection conferred by a vaccine against Gumboro disease in laying hens. Three hundred Isa Brown one-day-old chicks were equally distributed in three groups. Groups A and B were vaccinated, twice, at 9 and 24 days old with an intermediate-intermediate strain (2512), and group C remained unvaccinated. Groups B and C were challenged at 32 days old with the F52/70 strain through the eye. Bursal index, bursa/spleen relationship and microscopic lesions of the bursa, spleen and thymus after vaccination were evaluated at 1, 35 and 45 days old. Antibody titers by an indirect ELISA

<sup>1</sup> Laboratorio de Patología Aviar, <sup>2</sup>Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

<sup>3</sup> E-mail: eliana.icochea@gmail.com

were also measured. Group C showed mortality and Gumboro clinical signs during the study but not in birds of groups A and B. The bursal index values in the three groups were compatible with bursal atrophy. Histopathological lesions were severe in the three groups. At 45 days of age, birds of group C had the major seroconversion (3997), while groups A and B presented similar antibodies titers. It is concluded that although the use of an intermediate vaccine at 9 and 24 days old caused bursal atrophy, the vaccine also gave sufficient protection against Gumboro disease.

**Key words:** Gumboro disease, strain F52/70, vaccination, intermediate-intermediate vaccine

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Gumboro o Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) es una de las patologías de mayor importancia para la avicultura en el mundo debido a las pérdidas económicas que ocasiona por mortalidad y por su efecto inmunosupresivo (Babaahmady, 2005). La existencia de cepas variantes y muy virulentas de la enfermedad (vvIBDV) es parte importante de la problemática de esta enfermedad. Los primeros casos en el Perú se registraron en 1969 (Castro-Pozo, 1994).

La enfermedad tiene presentaciones clínicas y subclínicas, dependiendo de la edad en que ocurre la infección. La forma clínica se presenta entre las 3 y 6 semanas de edad (Hoerr, 2006) y la forma subclínica, caracterizada por inmunosupresión, ocurre en aves menores de tres semanas de edad. La prevención y control de la enfermedad se realiza principalmente mediante bioseguridad y vacunación.

Las aves de postura comercial son susceptibles al virus de Gumboro, siendo la patogenicidad de las cepas vacunales intermedias mucho mayor que en pollos de engorde. Actualmente, en ponedoras se incluye dos vacunas intermedias aplicadas a los 8 y 25 o a los 18 y 28 días de edad (Castro-Pozo, 1994).

La mayor parte de la literatura citada sobre el tema se concentra en pollos de engorde, sin considerar que la patogenicidad de

cepas vacunales y la susceptibilidad de las aves de postura es mayor. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de un programa de vacunación usando una cepa intermedia-intermedia del virus de la enfermedad infecciosa de la bursa en pollos de postura comercial sometidas a un reto experimental con la cepa F52/70.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó entre febrero y junio de 2006 utilizando 300 pollas de postura Isa Brown de un día de edad, que fueron divididas en tres grupos de 100 aves cada uno. Los grupos A y B fueron vacunados dos veces, vía ocular, a los 9 y 24 días de edad, contra la enfermedad de Gumboro con una cepa intermedia-intermedia (2512), el grupo C (Control) no fue vacunado. Los grupos B y C fueron desafiados al día 32 de edad utilizando la cepa F 52/70 por vía ocular, mientras que el grupo A no fue desafiado.

Los tres grupos fueron criados en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, en ambientes totalmente separados desde el primer día de edad. A los 35 días, los grupos B y C fueron trasladados a la Unidad Experimental del Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM para su desafío, usando una dosis de 60  $\mu$ L ( $10^4$  DIE50) de la cepa F52/70 del virus de Gumboro, aplicada por vía ocular.

Las aves fueron clínicamente examinadas durante 21 días posteriores al desafío. Se evaluaron los signos clínicos, mortalidad y lesiones macroscópicas. La patogenicidad de la cepa vacunal se evaluó al día 1, 35 y 45 de edad, considerando el índice bursal, la relación bursa/bazo, así como las lesiones microscópicas de bursa, bazo y timo después de la vacunación; además, fueron considerados los títulos de anticuerpos por la prueba de ELISA indirecta.

Para la evaluación de lesiones macro y microscópicas, se sacrificó 5 aves al azar por grupo a los 35, 37, 39, 42 y 53 días de edad. Se determinó el índice bursal (IB) según la fórmula de Giambrone (1987):  $\text{Peso de la bursa (g)} \times 1000 / \text{Peso corporal (g)}$ ; donde:  
1.5 a 3.5 = Bursa normal  
0.5 a 1.5 = Atrofia bursal  
Menor de 0.5 = Severa atrofia bursal

La relación bursa/bazo  $>1$  indica que la bursa es más grande que el bazo, y  $<1$  indica que la bursa es más pequeña que el bazo (Sulca, 2005).

La evaluación microscópica se realizó mediante una valoración cualitativa de lesiones en bursa, bazo y timo en 5 aves por grupo, tomando en cuenta la tabla de valores para daño bursal según Al Natour (2004):

- Grado 1: No hay lesiones o solamente reducción leve en menos del 10% de los folículos.
- Grado 2: Reducción de las células linfoides en 30% de los folículos.
- Grado 3: Moderada atrofia y/o reducción de células linfoides en 31-75% de los folículos.
- Grado 4: Severa necrosis y atrofia de células linfoides en más del 75% de los folículos.

La evaluación serológica se realizó usando la prueba de ELISA indirecta de los Laboratorios IDEXX. El nivel y uniformidad de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Gumboro se evaluó en 15 muestras de sangre obtenidas por punción de la vena

alar al día de edad, inmediatamente antes del desafío y luego, a los 21 días después del desafío (PD).

La prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía se utilizó para determinar diferencia estadística significativa en las variables de IB, relación bursa/bazo y niveles de anticuerpos entre los grupos experimentales. La prueba de Kruskal Wallis se empleó para la evaluación de las lesiones histopatológicas de bursa, bazo y timo.

## RESULTADOS

No se observó mortalidad ni signos clínicos en los dos grupos vacunados (A y B), mientras que las aves del grupo C presentaron cuadros de depresión y diarrea a partir de las 48 horas PD, y una mortalidad acumulada de 61% en los primeros 7 días del desafío. Las aves se recuperaron en los días posteriores haciendo la «curva de la enfermedad» característica (Cuadro 1).

Las lesiones en bursa en el grupo C (control) durante los 7 días posteriores al desafío fueron edema, hemorragia y contenido caseoso, además de otras lesiones compatibles con cuadros severos de Gumboro como hemorragia muscular en los muslos, necrosis hepática, hemorragia en proventrículo y uratosis renal. No se observó hemorragia en las bursas de las aves en los grupos A y B, aunque en el grupo B se presentó edema a partir del 7º día. Lo mismo ocurrió en el grupo A al 10º día.

El IB de las aves del grupo A y B estuvo dentro del rango de tamaño normal (1.5 a 3.5). En el grupo C, el IB disminuyó gradualmente hasta el día 21 después del desafío llegando a observarse valores de atrofia bursal (Cuadro 2). Se encontró diferencia significativa entre el grupo C y los grupos A y B al día 3 PD ( $p < 0.05$ ), pero no hubo diferencias significativas entre A y B. En el día 5 PD solo hubo diferencia estadística entre los grupos B y C ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 1. Número de aves con signos clínicos de la Enfermedad de Gumboro después del desafío con la cepa F 52/70, por vía ocular, en el grupo C (control no vacunado) (n=100)

	Días post desafío									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mortalidad	0	0	17	35	6	2	1	0	0	0
Depresión	0	5	38	22	17	12	6	3	0	0
Diarreas	0	8	35	26	20	16	13	6	2	0

Cuadro 2. Índice bursal y atrofia bursal hasta los 21 días post desafío con la cepa F 52/70, vía ocular, en aves vacunadas contra la Enfermedad de Gumboro (n=100)

	Días post desafío									
	Índice bursal					N.º de aves con atrofia bursal				
	3	5	7	10	21	3	5	7	10	21
Grupo A	3.4	2.3	2.1	2.2	2.1	0/5	1/5	2/5	2/5	3/5
Grupo B	3.4	1.8	1.8	1.6	1.5	2/5	2/5	2/5	4/5	5/5
Grupo C	5.6	3.7	1.8	1.6	0.9	0/5	0/5	3/5	4/5	5/5

Grupo A: vacunado, no desafiado; grupo B: vacunado, desafiado; grupo C: no vacunado, desafiado. Valores entre 1.5 – 3.5 = Bursa Normal; 0.5 – 1.5 = Atrofia Bursal; <0.5 = Severa Atrofia Bursal

La relación bursa/bazo fue significativamente diferente en los días 3 y 5 PD entre el grupo C con los grupos A y B ( $p < 0.05$ ), sin presentar diferencias entre los grupos A y B (Cuadro 3). Los tres grupos presentaron lesiones histológicas en bursa mayores a grado 3 al tercer día PD, y se caracterizaron por una severa necrosis de células y folículos linfoides, edema intersticial, infiltración de heterófilos, hiperplasia del epitelio de revestimiento y formaciones quísticas. Las lesiones en bazo a los 3 días PD fueron de grado 3 en los grupos desafiados, reduciéndose al grado 2 en los días posteriores. El timo se afectó únicamente en el grupo C, observándose lesiones a partir de los días 5 y 7 PD.

El promedio de los títulos de anticuerpos al primer día de edad fue de 2008 con un coeficiente de variación de 50.3%, indicando un nivel de anticuerpos maternos y una uniformidad aceptable del lote. Los anticuerpos en los grupos A y B tuvieron una ligera disminución a los 35 días de edad (3 días PD), mientras que las aves del grupo C presentaron el nivel mínimo (PGT 54) de anticuerpos, aumentando en forma notable (PGT 3997) a los 45 días de edad (Cuadro 4). Fue evidente la diferencia estadística en el nivel de anticuerpos a los 32 y 45 días de edad del grupo C con los grupos A y B.

Cuadro 3. Relación bursa/bazo y valores de lesiones microscópicas en ponedoras comerciales vacunadas contra la enfermedad infecciosa de la bursa y desafiadas con la cepa F 52/70

	Días post desafío									
	Relación bursa/bazo <sup>1</sup>					Lesiones microscópicas en bursa				
	3	5	7	10	21	3	5	7	10	21
Grupo A	1.1	1.0	0.9	0.8	0.9	3.8	3.0	3.6	3.4	2.4
Grupo B	1.1	0.8	0.8	0.6	0.6	3.8	4.0	3.0	3.0	3.0
Grupo C	1.6	1.7	0.7	0.7	0.4	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

Grupo A: vacunado, no desafiado; grupo B: vacunado, desafiado; grupo C: no vacunado, desafiado

<sup>1</sup> Valores >1: bursa es más grande que el bazo, y <1: bursa es más pequeña que el bazo

<sup>2</sup> Grado 1: No hay lesiones o solamente reducción leve en menos del 10% de los folículos; Grado 2: Reducción de las células linfoides en 30% de los folículos; Grado 3: Moderada atrofia y/o reducción de células linfoides en 31-75% de los folículos; Grado 4: Severa necrosis y atrofia de células linfoides en más del 75% de los folículos

Cuadro 4. Títulos de anticuerpos (PGT ± CV) por ELISA en aves vacunadas contra la enfermedad infecciosa de la bursa a los 9 y 24 días y desafiadas con la cepa F 52/70 a los 32 días de edad

Edad (días)	Grupo		
	A	B	C
1	2008 ± 50.3	2008 ± 50.3	2008 ± 50.3
32	1984 ± 51.1	1984 ± 51.1	54 ± 69.4
45	3277 ± 21.8	3129 ± 19.7	3997 ± 16.7

PGT: Promedio geométrico de título, CV: Coeficiente de variación

Grupo A: vacunado, no desafiado; grupo B: vacunado, desafiado; Grupo C: no vacunado, desafiado

## DISCUSIÓN

El grupo B, vacunado y desafiado, no presentó mortalidad ni signos clínicos durante todo el experimento. Similares resultados han sido reportados por Van der Berg (1991) y Remorini (2006), donde cepas clásicas y de alta virulencia no causaron mortalidad en aves vacunadas. Contrariamente a los grupos vacunados (A y B), el grupo C presentó una elevada mortalidad (61%), coincidiendo con los datos que reportó Saif (2003) en ponedoras no vacunadas.

Además, el grupo no vacunado presentó signos clínicos como diarrea (90%) y depresión (85%), siendo estos los principales signos clínicos en la enfermedad de Gumboro (Villegas, 2001; Gomes, 2005). El grupo B, vacunado y desafiado, no presentó los signos descritos, lo cual demuestra que estuvo adecuadamente protegido por la vacuna contra IBDV. El porcentaje de signos clínicos y de mortalidad del grupo C concuerda con lo descrito por Van der Berg (1991) sobre una alta susceptibilidad de las pollas de postura hacia el virus de Gumboro por su genética y por ser aves de crecimiento lento. En este grupo

C, la enfermedad de Gumboro produjo un pico de «enfermedad» y mortalidad entre los 5 a 6 días posterior al desafío, disminuyendo al día 10. Esto coincide con otros reportes en la literatura (Saif, 2003; Sulca, 2005).

Referente a las lesiones macroscópicas, un gran porcentaje de aves del grupo C mostraron edema y hemorragia en la bursa de Fabricio, con presencia de material caseoso, durante los primeros 7 días PD, disminuyendo el número de casos con el paso de los días. En cambio, en el grupo B, pocas aves presentaron este tipo de lesiones en grado leve, debido a la protección de la vacuna. Una ave del grupo A presentó edema bursal a los 42 días de edad, probablemente como consecuencia de la replicación del virus vacunal. Es normal que las vacunas vivas que contienen cepas intermedias con virus completo causen algún grado de daño bursal (Van der Berg, 1991).

El IB es usado para determinar atrofia de bursa, la misma que no necesariamente puede ser causada por el virus de Gumboro (Sulca, 2005). Los valores de IB de los grupos A y B (entre 1.5 y 3.5) estuvieron dentro del rango normal durante el experimento. En cambio, en el grupo C se encontró atrofia bursal severa (0.4) a los 21 días PD; asimismo, las aves de este grupo presentaron edema bursal a los 3 días PD, presentando los mayores valores (5.6) de índice bursal. Estos cambios morfológicos de la bursa durante el curso de la enfermedad de Gumboro que comienzan con un aumento del tamaño de la bursa para terminar con una atrofia bursal, concuerdan con el estudio realizado por Saif y Lukert (2003).

De los grupos vacunados, el grupo B presentó el doble de aves con atrofia bursal a partir del día 10 PD que el grupo A, lo que refleja el efecto del desafío con el virus patogénico.

La lesión histopatológica predominante durante el estudio fue la necrosis linfoide en

la bursa de Fabricio, que se correlaciona con lo descrito por González (2005) y Van der Berg (1991), y se atribuye el daño de la bursa a la alta susceptibilidad de las pollas de postura al IBDV. En el grupo A no desafiado, el daño bursal observado tiene que ser causado por el virus de la vacuna aplicada. En el día 3 PD, el bazo mostró lesiones de grado 3 en todos los grupos, probablemente debido a la pérdida de linfocitos originada por la vacunación. Posteriormente, todos los grupos se mantuvieron con un grado 2 de lesiones hasta el final del experimento. El timo fue muy poco afectado por el virus, con excepción del grupo C que a los días 5 y 7 PD presentó un grado 2 de lesión (moderado).

El día 32 (día del desafío) los grupos A y B presentaron un PGT de 1984 y un CV de 51.1, indicando valores normales por efecto de la vacunación; resultados similares fueron reportados por Sánchez (1994). El grupo C presentó, previo al desafío, un PGT de 54, el cual representa la disminución esperada de anticuerpos maternos. Al día 10 PD se observó aumento de los anticuerpos en los tres grupos; en el grupo A como consecuencia de una respuesta a la vacunación y en los grupos B y C como consecuencia a la seroconversión en respuesta al desafío.

Los resultados del presente estudio demuestran que aun cuando las vacunas intermedias en ponedoras producen cierto daño bursal, ellas protegen contra el desafío de campo (Tsukamoto, 1995).

## CONCLUSIONES

La vacunación de aves de postura contra la enfermedad de Gumboro en un programa de dos vacunas intermedias-intermedias aplicadas a los 9 y 24 días de edad, usando la cepa 2512 del virus de Gumboro, protegió eficientemente a las aves de la enfermedad clínica; sin embargo, ocasionó daño bursal debido a la réplica del virus vacunal en la bursa de Fabricio.

LITERATURA CITADA

1. **Al Natour M. 2004.** Effect of different levels of maternally derived antibodies on protection against Infectious Bursal Disease virus. *Avian Dis* 48: 177-182.
2. **Babaahmady E. 2005.** Enfermedad de Gumboro. Histopatología de la Bursa de Fabricio en la enfermedad natural y experimental en pollos de engorde. *REDVET* 6(3). [Internet]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040405.html>
3. **Castro-Pozo X. 1994.** Evaluación de parámetros productivos y respuesta inmune en pollos de engorde vacunados con dos programas de vacunación contra la enfermedad de Gumboro. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 25 p.
4. **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.
5. **Gomes A. 2005.** Genotyping of infectious bursal disease virus strains by restriction fragment length polymorphism analysis of the VP1, VP2 and VP3 genes. *Avian Dis* 49: 500-506.
6. **González R. 2005.** Frecuencia y caracterización de lesiones anatomo-patológicas en la enfermedad de Gumboro y enfermedades secundarias asociadas en nuestras condiciones ambientales. Estudio retrospectivo. *REDVET* VI(10). [Internet]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101005/100503.pdf>
7. **Hoerr F. 2006.** Impact of subclinical immunosuppression on poultry production: clinical importance of immunosuppressive viruses. Impact of subclinical immunosuppression on poultry production. En: *Symposium AAAP*. Georgia, USA: *The American Avian Pathology*.
8. **Remorini P. 2006.** Characterization of infectious bursal disease viruses from Argentina. *Avian Dis* 50: 245-251.
9. **Saif Y. 2003.** Vacunas y vacunación contra la enfermedad de Gumboro. *Guía Anual 2003*. *Mundo Vet* 43: 7-8.
10. **Saif Y, Lukert P. 2003.** Infección de la Bolsa de Fabricio. En: *Enfermedades de las aves*. 2ª ed. México: *El Manual Moderno*. p 739-751.
11. **Sánchez C. 1994.** Evaluación de dos cepas vacunales del virus de la infección de la bolsa de Fabricio (IBF) en pollos de engorde comerciales. Lima: UNALM. 115 p.
12. **Sulca I. 2005.** Enfermedad de Gumboro, principal agente inmunosupresor en las aves. Tesina de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 62 p.
13. **Van der Berg T. 1991.** Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. *Avian Pathol* 20: 409-419.
14. **Tsukamoto K. 1995.** Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. *Avian Dis* 39: 218-229.
15. **Villegas P. 2001.** Control de la enfermedad infecciosa de la bolsa y de la anemia infecciosa aviar. En: *XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura*. Guatemala: Asociación Latinoamericana de Avicultura.