

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Evaluación de dos vacunas comerciales contra al [i.e.
la] infección bursal conteniendo el complejo antígeno
anticuerpo en pollos de carne**

TESIS

para optar el título de Médico Veterinario

AUTORA

Karina del Rosario Vidal Alzamora

Lima – Perú

2006

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iv
SUMMARY	v
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. SISTEMA INMUNE AVIAR	4
2.1.1. Bursa de Fabricio	5
2.2. ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA	6
2.2.1. Historia y Epidemiología	6
2.2.2. Etiología	8
2.2.3. Serotipos	9
Subtipos del Serotipo 1	10
2.2.4. Transmisión	11
2.2.5. Patogénesis	12
2.2.6. Presentación de la enfermedad	14
Forma Clínica	14
Forma Subclínica	15
2.2.7. Lesiones Macroscópicas	16
2.2.8. Lesiones Microscópicas	17
2.2.9. Diagnóstico	19
Diagnóstico Diferencial	20
2.2.10. Prevención y Control	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. MATERIALES	24
3.1.1. Lugar de Estudio	24

3.1.2. Animales	24
Diseño y Tamaño muestral	24
3.1.3. Alimento y agua	25
3.1.4. Vacunas y Cepas de desafío	25
3.1.5. Equipo y materiales para la crianza	26
3.1.6. Equipo y materiales para la toma y evaluación de muestras ..	26
3.2. MÉTODOS	27
3.2.1. Diseño experimental	27
3.2.2. Cronograma integral de vacunación	28
3.2.3. Cronograma de actividades a lo largo del estudio	29
3.2.4. Desafío experimental	30
3.2.5. Parámetros de evaluación	30
A. Signos clínicos y mortalidad	30
B. Evaluación de las lesiones Macroscópicas	32
Índice bursal.....	32
C. Evaluación de las lesiones Microscópicas	33
D. Evaluación Serológica.....	34
E. Medición de los Parámetros Productivos	35
F. Análisis Estadístico.....	35
IV. RESULTADOS	36
V. DISCUSIÓN.....	53
VI. CONCLUSIONES.....	59
VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	60
VIII. APÉNDICE	70

LISTA DE CUADROS

Páginas

Cuadro 1. Porcentaje (%) de aves con depresión desafiados con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	36
Cuadro 2. Porcentaje (%) aproximado de aves con diarrea desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	38
Cuadro 3. Porcentaje (%) aproximado de aves con diarrea desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad, según el grado de severidad	39
Cuadro 4. Porcentaje (%) de aves con lesiones macroscópicas de la superficie externa de la Bursa de Fabricio desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	40
Cuadro 5. Porcentaje (%) de aves con lesiones macroscópicas de la superficie interna de la Bursa de Fabricio desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	41
Cuadro 6. Índice Bursal promedio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad y de aves sin desafiar.....	43
Cuadro 7. Calificación de las Bursas de Fabricio de aves a los 35 días de edad (Antes del desafío) según su Índice Bursal expresada en porcentaje (%).	43
Cuadro 8. Calificación de las Bursas de Fabricio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad según su Índice Bursal expresada en porcentaje (%)	44
Cuadro 9. Calificación de las Bursas de Fabricio de aves de 45 días de edad no desafiadas según su IB expresada en porcentaje (%).	44
Cuadro 10. Promedio de la calificación histopatológica de las Bursas de Fabricio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad y de aves sin desafiar (n=5).	46

Cuadro 11. Títulos de Anticuerpos (GTM) y Coeficiente de Variación (%) por la prueba de ELISA, de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	47
Cuadro 12. Títulos de Anticuerpos (GTM) y Coeficiente de Variación (%) por la prueba de ELISA, de aves sin desafiar.....	49
Cuadro 13. Peso Corporal e I.C.A semanal de aves antes del desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	50
Cuadro 14. Ganancia de peso corporal de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	51
Cuadro 15. Ganancia de peso corporal, I.C.A e I.E.P a los 45 días de edad de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	52
Cuadro 16. Ganancia de peso corporal, I.C.A e I.E.P a los 45 días de edad de aves sin desafiar	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Grados de diarrea según su severidad	31
Figura 2. Aves con depresión al 2do día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	37
Figura 3. Porcentaje (%) aproximado de aves con diarrea desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	38
Figura 4. Títulos de Anticuerpos (GTM) por ELISA de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	48
Figura 5. Títulos de Anticuerpos (GTM) por ELISA de aves sin desafiar	49
Figura 6. Peso corporal semanal de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad durante todo el estudio	51

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la protección conferida por dos vacunas conteniendo un complejo antígeno anticuerpo (Ag/Ac) conteniendo la cepa 2512 del virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIBV) ligada a anticuerpos específicos al virus, aplicadas al primer día de edad vía subcutánea en pollos de carne. Hubo cuatro grupos experimentales. Los grupos A y B fueron vacunados al día de edad con dos vacunas complejo antígeno anticuerpo; el grupo C fue vacunado con un programa de vacunación tradicional con vacunas intermedias a los 10 y 18 días de edad y el grupo D (control) no fue vacunado. A los 35 días de edad 45 aves de cada grupo fueron desafiadas con la cepa estándar F52/70 de la EIB. A los 4, 7 y 10 días post desafío se sacrificó 15 aves respectivamente de cada grupo para su evaluación. La protección fue medida a través de los signos clínicos, Índice Bursal (I.B.), lesiones macroscópicas y microscópicas, serología y parámetros productivos después del desafío. Todos los grupos presentaron aves con depresión y diarrea, los cuales fueron mas severos en el grupo D y menores en el grupo A. Se observó edema bursal en todos los grupos hasta los 10 días post desafío. Los valores de I.B. en los cuatro grupos evidencio atrofia bursal y las lesiones macroscópicas y microscópicas fueron más severas en el grupo D que en los grupos vacunados. La seroconversión se observó solo en los grupos con vacunas complejos antígeno anticuerpo (A y B) al fin del estudio. Los grupos vacunados mostraron mejores parámetros productivos que el grupo no vacunado frente al desafío experimental con la cepa F52/70 de EIB. Aunque los resultados indican que los grupos vacunados fueron mejor protegidos que el grupo control estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Palabras clave: Enfermedad infecciosa de la Bursa (EIB), complejo antígeno anticuerpo, vía subcutánea, vacunación, protección.

SUMMARY

The present study evaluated the conferred protection by two immune complex (Icx) vaccines contained a 2512 strain of Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) linked to a virus specific antibodies of vaccination at the one day old by subcutaneous route in broilers chickens. There were four experimental groups. The group A and B were vaccinated at one day old with two commercial Icx vaccines; group C was vaccinated with traditional program of vaccination with intermediate vaccines at 10 and 18 days old age and group D (control) without vaccination. At 35 days old 45 birds of each group were challenged with a standard strain F 52/70 of the IBDV. At 4, 7 and 10 days post challenge 15 birds of each challenge group was euthanized for parameters evaluation. The protection was measured through clinical signs, bursal index (B.I.), gross and microscopic lesions, serology and productive parameters after challenge. All the groups presented clinical signs, they were severe and mild in control group and group A respectively. The bursal oedema was observed until 10 days post challenge. The values of I.B. in the four groups were compatible with bursal atrophy and the histopathology lesions were severe in the control group. Seroconversion was observed only in groups with Icx vaccines (A y B) until the end of the study. Productive parameters of the vaccinated groups were better in vaccinated group. Although the obtained results indicated that the vaccinated groups were better protected compared with control group there was not observed significant statistical difference between groups ($p>0.05$).

Key words: Infectious bursal disease virus (IBDV), Immune complex (Icx), subcutaneous route, vaccination, protection.

II. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) conocida como enfermedad de Gumboro, o en inglés “Infectious Bursal Disease (IBD)”, es una infección viral aguda, altamente contagiosa de pollos jóvenes ocasionada por un virus de la familia Birnaviridae que se caracteriza por ser muy contagioso y resistente a los agentes físicos y químicos persistiendo en el medio ambiente e instalaciones avícolas por largo tiempo.

La enfermedad se presenta de dos formas: la forma clínica en promedio afecta aves entre las 3 a 6 semanas de edad, y la forma subclínica que ocurre en aves menores de tres semanas (Lukert y Saif, 2003).

La EIB es endémica en el mundo, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), estima que la enfermedad esta presente en más del 95% de los países miembros, y la forma clínica con cepas muy virulentas en más del 80% de dichos países (Jackwood, 2001). La EIB se conoce en el Perú desde el año 1969, cuando Ramos y Tsunehige describieron los primeros casos (Castro – Pozo, 1994). La caracterización molecular de muestras de Bursas de Fabricio de aves de diferentes regiones del Perú mostró la presencia de cepas Clásicas y Variantes tipo Delaware en nuestro país (Icochea *et al.*, 2002; Banda *et al.*, 2003).

El virus es considerado el principal agente inmunosupresor de las aves (Banda y Villegas, 2004). La enfermedad se caracteriza por la destrucción de los precursores de los linfocitos B en la Bursa de Fabricio y por causar lesiones severas en este órgano. Como consecuencia, puede ocasionar una mortalidad variable o diversos grados de inmunosupresión incrementando la susceptibilidad a otras infecciones (Dolz *et al.*, 2005). Se ha demostrado que las aves tienen una pobre respuesta de anticuerpos a la vacunación contra la Enfermedad de Newcastle, Bronquitis Infecciosa entre otras (Zavala, 1999; Genova, 2000; Villegas y Banda, 2001). La inmunosupresión es más severa cuanto menor es la edad del ave afectada (Sivanandan y Naheswara, 1980; Sivanandan y Naheswara, 1981; Castro – Pozo, 1994). Por los efectos del virus la enfermedad causa grandes pérdidas económicas a la industria avícola (Villegas y Banda, 2001; Lucio, 2003).

La prevención se realiza por medidas de bioseguridad y por vacunación. La vacunación de las reproductoras es una práctica de rutina para la prevención de la forma subclínica en la progenie. Para prevenir la forma clínica en pollos de carne se requiere la inmunización activa de los mismos. Existe una amplia gama de vacunas comerciales conteniendo virus con diferentes grados de atenuación, por otro lado existen diferentes niveles y uniformidad de anticuerpos en la progenie. Se conoce que las vacunas a virus vivo aplicadas al primer día a pollos con bajos niveles de anticuerpos maternos pueden causar lesiones en la Bursa de Fabricio e inmunosupresión, contrariamente en pollos con altos niveles de inmunidad materna una inhibición de la inmunidad activa por neutralización viral (Haddad *et al.*, 1997; Villegas y Banda, 2001).

Durante los últimos años se han desarrollado vacunas conteniendo complejos de antígeno y anticuerpos específicos al virus, las cuales contienen un virus vivo de categoría intermedia plus (cepa 2512), y son aplicadas *in ovo* o al primer día de edad. Este tipo de vacuna es capaz de proteger al virus vacunal de su neutralización por los anticuerpos maternos pero no de impedir su progresiva replicación, de tal forma que pollos con bajos niveles de anticuerpos serán protegidos primero y pollos con altos niveles de anticuerpos

posteriormente, entre la segunda a tercera semana de vida. Asimismo, por ser administradas a dosis única en la planta de incubación tienen la ventaja de evitar potenciales fallas en la administración de la vacuna a nivel de campo. La vacuna complejo antígeno anticuerpo (Ag/Ac) se presenta como una nueva alternativa de protección contra la EIB cuya eficacia y seguridad requieren ser comprobadas, por ello en el presente estudio se evaluó la protección de dos vacunas comerciales que contienen un complejo vacunal Ag/Ac contra el virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa versus un programa de vacunación con una vacuna convencional a virus vivo frente a un desafío experimental con la cepa estándar F52/70 de la EIB en pollos de carne.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

SISTEMA INMUNE AVIAR

El sistema inmune aviar se divide en órganos linfoides primarios y órganos linfoides secundarios.

Los órganos linfoides primarios de las aves son el Timo y la Bursa de Fabricio, estos órganos regulan la producción y diferenciación de linfocitos T y B respectivamente, los que migraran a los órganos linfoides secundarios. Estos órganos se generan en etapas tempranas en la vida fetal. El timo surge de la tercera y cuarta bolsa faríngea; la Bursa de Fabricio se desarrolla de la unión cloacodérmica (Tizzard, 1998).

En etapas tempranas de la vida fetal, las células madres linfoides comienzan a producirse en el peritoneo primitivo, después en el hígado fetal y saco vitelino, y en etapas más avanzadas en la médula ósea. A medida que estas células se desarrollan migran a través de la corriente sanguínea a la Bursa de Fabricio y Timo, y es en estos lugares donde se aprecia por primera vez linfocitos reconocibles en el feto (Tizzard, 1998).

Los órganos linfoides secundarios del ave son el bazo, médula ósea, glándula de Harder (situada en la conjuntiva del párpado inferior), tejido linfoide asociado a los bronquios (BALT), y tejido linfoide asociado al intestino (GALT). Estos órganos linfoides surgen del mesodermo en una etapa tardía de la vida fetal y persisten durante toda la vida adulta. Se encargan de la estimulación antigénica y por tal razón se desarrollan poco en animales libres de microorganismos.

Las células plasmáticas derivadas de los linfocitos B son las productoras de anticuerpos. Existen tres clases principales de anticuerpos en aves, IgM, IgY (comúnmente IgG) e IgA (Tizzard, 1998; Zavala, 1999). El primer anticuerpo que se forma es la IgM el cual se encuentra tempranamente en la infección, conforme avanza la respuesta la IgG es el siguiente tipo de anticuerpo producido y el más abundante; la última clase de anticuerpo es la IgA que es producida a nivel local de los tractos respiratorio y gastrointestinal (Tizzard, 1998; Zavala, 1999).

Bursa de Fabricio

La Bursa de Fabricio (BF) es un órgano linfoepitelial que se encuentra sólo en las aves. Se origina en la unión del ectodermo y del endodermo, y se le ubica exactamente en posición dorsal a la cloaca (Pope, 1996; Tizzard, 1998).

Este órgano presenta una estructura redonda en forma de saco, en el interior de este se extienden grandes y pequeños pliegues de epitelio y, entre los cuales se encuentran dispersos los folículos linfoides (Tizzard, 1998). Cada folículo se divide en corteza y médula, separada una de la otra por una membrana basal que es prolongación de la membrana basal de la superficie epitelial (Pope, 1996; Tizzard, 1998). La corteza de los folículos activos contiene poblaciones compactas de linfocitos pequeños y linfoblastos, mientras que la médula contiene linfocitos maduros, macrófagos y células epiteliales reticulares.

La involución de la BF se da con el inicio de la madurez sexual del ave, la cual puede empezar de las 14 semanas a 5 meses de edad. Los folículos linfoides pierden su corteza seguido por la médula (Pope, 1996). Los folículos sufren cambios regresivos y císticos caracterizados por fibrosis, metaplasia y reducción de los centros germinales.

ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA

La Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) o Enfermedad de Gumboro, es una de las enfermedades más importantes para los productores avícolas en todo el mundo por las grandes pérdidas económicas que causa, tanto por la morbilidad y mortalidad de su forma clínica, como por la inmunosupresión producida en la forma subclínica.

La EIB es una enfermedad viral aguda, sumamente contagiosa de pollos jóvenes. Las células linfoides, en especial las células B inmaduras constituyen el blanco celular primario, y la Bursa de Fabricio es la que se afecta con mayor gravedad (Majo *et al.*, 2002; Banda *et al.*, 2003; Lukert y Saif, 2003). Las mayores lesiones causadas por este virus son inflamación y atrofia de la Bursa de Fabricio (Majo *et al.*, 2002).

Historia y Epidemiología:

La enfermedad emergió en 1957, fue formalmente reportada por Gosgrove en 1962, en lotes de pollos de carne localizados cerca del pueblo de Gumboro, Delaware, de ahí la denominación de “Enfermedad de Gumboro” (Lasher y Shane, 1994).

Originalmente fue descrita como Síndrome de Nefrosis Aviar debido al daño renal extremo que se encontró en las aves que murieron por la infección

(Lasher y Shane, 1994; Lukert y Saif, 2003). Winterfield y Hitchner en 1962, describieron un aislamiento del virus de Bronquitis Infecciosa (Gray) que procedió de un caso de campo de nefrosis similar al nuevo síndrome de Nefrosis Aviar (Ahmed y Akhter, 2003; Lukert y Saif, 2003). Debido a las semejanzas entre las lesiones causadas por el virus Gray y aquellas observadas en la Nefrosis Aviar descrita por Cosgrove, se pensó que el virus Gray era el agente causal, sin embargo en estudios posteriores de Winterfield y colaboradores se aisló el agente causal, el cual se conoció como Agente Bursal Infeccioso y se determinó como la causa verdadera de la EIB; el virus Gray se identificó como un aislamiento del virus de Bronquitis Infecciosa con tendencias nefrotóxicas (Lukert y Saif, 2003).

En 1980 en Europa se reconoció dos serotipos de la EIB denominándoseles 1 y 2 (Lasher y Shane, 1994; Lukert y Saif, 2003).

En 1984 y 1985, Rosenberg y colaboradores aislaron virus pertenecientes al serotipo 1 de la EIB en la península de Delmarva – USA, estos resultaron ser antigénicamente muy diferentes a las cepas clásicas de la EIB previamente identificadas, a estas nuevas variaciones se les denominó Cepas Variantes (Villegas y Banda, 2001). Estas cepas no causaban signos clínicos típicos de las cepas clásicas de la EIB ya descritas, en lugar de eso, se reportaban problemas respiratorios prolongados y repetidos, junto con un pobre desempeño de la parvada, debido a la inmunosupresión causada por la severa atrofia bursal.

Al final de los 1980s, se describió en Europa los primeros casos de una forma aguda de la EIB, con altas tasas de mortalidad en pollos de carne causando mortalidad del 30 a 70% en pollos de carne y gallinas de postura, estos se presentaban aun en lotes vacunados contra la EIB. La caracterización molecular e inmunológica de esas cepas aisladas de casos agudos demostraron la aparición de nuevas cepas, denominadas cepas muy virulentas de la EIB (vvEIB) (Dolz *et al.*, 2005).

En 1987, una cepa de alta patogenicidad del serotipo 1 de la EIB emergió en Holanda y Bélgica, se diseminó al Reino Unido en 1988, Medio Este y África en 1989, China en 1990 y Rusia en 1993 (Lasher y Shane, 1994). Posteriores estudios identificaron esta nueva cepa, vvEIB, en diversos países como España (Majo *et al.*, 2002; Dolz *et al.*, 2005), Malasia (Phong *et al.*, 2003) y Latinoamérica (Di Fabio *et al.*, 1999; Ikuta *et al.*, 2001; Banda *et al.*, 2003; Banda y Villegas, 2004). Se identificó también en el Sudeste de Europa (Zorman – Rojs *et al.*, 2003), Egipto (Abdel – Alim *et al.*, 2003), Croacia (Lojkic *et al.*, 2003), Túnez (Mardassi *et al.*, 2004).

La EIB de alta patogenicidad no ha sido reconocida en Norte América ni Australia (Lasher y Shane, 1994; Ignjatovic y Sapats, 2001).

Etiología

El virus de la EIB pertenece a la familia Birnaviridae, género Avibirnavirus, que incluye también al Virus de la Necrosis Pancreática del pez, Virus Tellina de los moluscos bivalvos y el Virus X *Drosophila* de la mosca de la fruta (Lasher y Shane, 1994; Villegas y Banda, 2001; Lukert y Saif, 2003). Estos virus no han sido observados en mamíferos (Ceva, 2002).

El virus de la EIB es un virus no envuelto de simetría icosaédrica, con un diámetro que varía de 55 a 65 nm (Lukert y Saif, 2003). Los virus de esta familia poseen un genoma constituido por dos segmentos de ARN de cadena doble (ds), A y B (Hirai y Shimakura, 1974; Müller *et al.*, 1979; Lukert y Saif, 2003).

El segmento mayor, segmento A, mide alrededor de 3.2 kb de longitud, codifica una poliproteína que es dividida por autoproteólisis en proteínas virales maduras VP2, VP3, VP4 y VP5. El segmento más pequeño, segmento B, mide alrededor de 2.8 kb y codifica VP1 (Phong *et al.*, 2003). Las proteínas VP2 y VP3, han sido identificadas como los mayores determinantes antigénicos (Majo

et al., 2002), la VP2 contiene determinantes antigénicos para especificidad de serotipos, pudiendo ser usado para diferenciar entre los dos serotipos del virus de la EIB, mientras que la VP3 contiene antígenos de grupo específico común a los dos serotipos (Dybing y Jackwood, 1996; Lukert y Saif, 2003). La proteína VP2 contiene tres epítomos independientes responsables de la estimulación de anticuerpos neutralizantes. El VP2 es también responsable de los determinantes de virulencia, tropismo celular y características patógenas de la EIB (Brandt *et al.*, 2001). Estudios han demostrado que cambios en la región VP2 dan las variaciones antigénicas o patogénicas y que las propiedades antigénicas alteradas de las cepas Variantes son causadas en parte por los cambios en VP2 (Dormitorio *et al.*, 1997).

El virus de la EIB es altamente contagioso y permanente en el medio ambiente por su resistencia a las condiciones ambientales y a los desinfectantes.

El virus de la EIB es estable a amplios rangos de pH, puede tolerar acidez tan baja como pH 2 y es estable en pH 9, pero es inhibido en soluciones alcalinas con un pH de 12. Es resistente al tratamiento con éter y cloroformo, y se inactiva si se expone al fenol o cresol en concentraciones de 1% durante una hora (Villegas y Banda, 2001; Ceva, 2002; Lukert y Saif, 2003).

La resistencia de este virus a las condiciones ambientales y la emergencia de cepas Variantes son la mayor causa de la perpetuación de la infección en más regiones de producción avícola del mundo (Mohamed *et al.*, 1996)

Serotipos

El virus de la EIB tiene dos serotipos, solo las cepas del serotipo 1 son patogénicas para pollos, las cepas del serotipo 2 han sido aisladas también en pavos, patos y otras aves las cuales no han mostrado patogenicidad (Sellers *et*

al., 1999; Banda *et al.*, 2001; Ikuta *et al.*, 2001; Banda *et al.*, 2003; Lukert y Saif, 2003).

Se reportó la presencia anticuerpos contra ambos serotipos 1 y 2 en pavos; donde sólo el serotipo 2 fue detectado en lotes de pavos naturalmente infectados, los anticuerpos contra el serotipo 1 fueron identificados en lotes que habían sido vacunados con vacunas comerciales que contenían dicho serotipo (Jackwood *et al.*, 1982).

Perelman y Heller (1982), reportaron en pavos lesiones microscópicas en la Bursa de Fabricio junto con una disminución de la respuesta inmune, disminución de los niveles de IgG, y reducción de la respuesta mitogénica de los linfocitos, sugiriendo que un parcial y transitorio desorden en el funcionamiento del sistema inmune puede ocurrir en pavos infectados a muy temprana edad, aun en la ausencia de signos clínicos o mayores cambios patológicos.

Los dos serotipos son diferenciados por medio de pruebas de neutralización viral, pero no son distinguibles por pruebas de anticuerpos fluorescentes ni ELISA.

La Inmunización contra el serotipo 2 no protege contra el serotipo 1 (Lukert y Saif, 2003).

Subtipos del Serotipo 1

Los subtipos del serotipo 1 son los únicos patogénicos, estos se dividen en cepas Clásicas, cepas Variantes y cepas muy Virulentas (vvEIB). Estas difieren en patogenicidad e inmunogenicidad.

Jackwood y Saif identificaron seis subtipos antigénicos por la prueba neutralización viral (Dybing y Jackwood, 1996; Majo *et al.*, 2002). Los grupos 1

y 2 contienen los virus de cepas Variantes, los grupos 3, 4, 5 y 6 contienen los virus de cepas Clásicas (Jackwood, 2001).

La utilización de pruebas moleculares ha sido de gran utilidad en la genotipificación de las cepas de la EIB. Jackwood y Sommer han ajustado el RT/PCR/RFLP (Polimorfismo en los fragmentos de restricción –por sus siglas en ingles “Restriction fragment length polymorphism”) para clasificar los virus dentro de 6 grupos de virus genéticamente relacionados (Ikuta *et al.*, 2001).

Existe cierto grado de inmunidad cruzada entre cepas Clásicas y Variantes. Inmunizaciones con cepas Variantes son capaces de inducir buena protección contra cepas Clásicas y Variantes; inmunizaciones con cepas Clásicas inducen buena protección contra cepas Clásicas y parcial protección contra cepas Variantes (Dybing y Jackwood, 1996; Jackwood *et al.*, 1999; Lovell, 2000).

Transmisión

La EIB es una enfermedad altamente contagiosa, por su gran resistencia al medio ambiente lo que conlleva a su permanencia en las instalaciones avícolas por largo tiempo.

El virus puede permanecer infeccioso en un local alrededor de 120 días después de haber extraído a las aves infectadas, también se ha demostrado virus infeccioso en el agua, alimento y heces obtenidos de granjas afectadas después de 50 días (Villegas y Banda, 2001).

La transmisión del virus se da por contacto directo de aves infectadas con aves susceptibles, por contacto con vectores o fomites, principalmente por contaminación de la cama, alimento, agua con la materia fecal de aves infectadas, las cuales pueden eliminar el virus hasta 14 a 16 días post infección (Lasher y Shane, 1994).

La larva de escarabajo *Alphitobious diaperinus* es un vector importante de la EIB. No existe evidencia de transmisión transovárica o que exista un estado de portador verdadero de aves recuperadas (Villegas y Banda, 2001; Ceva, 2002; Lukert y Saif, 2003).

Se ha estudiado la posibilidad que los perros sean portadores de la EIB. Torrents *et al.* (2004) obtuvieron virus viables y con capacidad infectiva en las heces de perros infectados de manera experimental mediante la ingesta de pollos afectados con una cepa de alta virulencia de la EIB durante dos días posteriores a la ingesta. La comparación molecular del virus administrado y el excretado mediante la técnica RT-PCR indicó que el virus mantiene las mismas características iniciales.

Por razones aun no claras, la incidencia de la enfermedad (nuevos brotes, tasas de mortalidad más alta) es mayor durante el verano (Gardin, 2003), un hecho que usualmente relaciona los casos de la EIB con el estrés climático (Mardassi *et al.*, 2004).

Patogénesis

La infección es comúnmente por vía oral, por medio de la ingestión material orgánico (alimento, agua, cama, etc.) y/o vectores (*Alphitobious diaperinus*) contaminados con el virus.

Estudios secuenciales por Inmunofluorecencia de tejidos de pollos infectados por vía oral con la EIB, han demostrado que el virus se replica en los macrófagos y células linfoides del ciego cuatro horas post inoculación, después de una hora se detecta en el duodeno y yeyuno. El virus llega al hígado después de cinco horas post inoculación, penetrando al torrente sanguíneo, donde se distribuye hacia otros tejidos, incluyendo la Bursa, la infección de esta es seguida de una segunda viremia masiva (Ceva, 2002; Lukert y Saif, 2003).

El virus se replica principalmente en las células linfoides de la Bursa de Fabricio, tiene predilección por los linfocitos B inmaduros ligados a IgG (Ley *et al.*, 1983).

Las tonsilas cecales y la médula ósea son tejidos linfoides no bursales en donde se puede presentar replicación viral en etapas más tardías después de la inoculación de virus Variantes (Elankumaran *et al.*, 2002).

El virus se replica y ensambla en el citoplasma de la célula, y su liberación ocurre vía destrucción celular (Pereira *et al.*, 1989). La destrucción de linfocitos de la Bursa se da por efecto citopático directo del virus de la EIB causando necrosis; y/o induciendo apoptosis. El virus de la EIB también induce apoptosis en linfocitos de sangre periférica (Inoue *et al.*, 1999).

La EIB suprime la respuesta mitogénica de las células del bazo con mayor potencia entre los 3 y 8 días posteriores a la inoculación (Rautenschlein *et al.*, 2003).

La infección del virus en la Bursa induce la presencia de linfocitos T intrabursales, ambos CD4+ y CD8+, esta se encuentra relacionada a la virulencia del virus. Los linfocitos T llegan a la Bursa de Fabricio en la fase aguda de la infección durante la replicación viral, y permanecen por varias semanas (Kim *et al.*, 1999). Esta acumulación de linfocitos T intrabursales probablemente se encuentra relacionada con la replicación viral intrabursal del virus de la EIB (Rautenschlein *et al.*, 2003). El rol de los linfocitos T en la patogénesis o en la recuperación no está clara, se especula que las células T pueden proteger contra daño bursal y limitar la replicación viral (Hudson *et al.*, 2002) o posiblemente participan en la recuperación de la Bursa (Kim *et al.*, 1999).

Los daños causados y el grado y persistencia de inmunosupresión producida por el virus se encuentran relacionadas con la edad del ave siendo más

severos en aves menores de 3 semanas (Sivanandan y Naheswara, 1980; Sivanandan y Naheswara, 1981; Castro – Pozo, 1994).

Presentación de la enfermedad

El virus de la EIB ha mostrado diferentes grados de patogenicidad y mortalidad en pollos. Algunas cepas han causado sólo infección subclínica mientras que otras alta mortalidad (Yamaguchi *et al.*, 1996).

Las formas de presentación de la enfermedad, subclínica y la clínica, están determinadas por la edad del ave cuando ocurre la infección, por la virulencia de la cepa viral involucrada y por el grado de inmunidad de las aves infectadas (Villegas y Banda, 2001).

Forma Clínica

El periodo de incubación es muy breve y los signos de la enfermedad se manifiestan a los 2 a 3 días después de la exposición (Lukert y Saif, 2003). Esta presentación se da mayormente en pollos de 3 a 6 semanas o mayores, reportándose también en pollos muy jóvenes hasta de 7 días, afectados por cepas de alta virulencia (Lojkic *et al.*, 2003).

Los virus de alta virulencia de la EIB afectan a lotes con niveles de anticuerpos maternos protectivos para las cepas Clásicas (Yamaguchi *et al.*, 1996; Gardin, 2003; Lojkic *et al.*, 2003; Zorman – Rojs *et al.*, 2003; Mardassi *et al.*, 2004).

La forma clínica tiene un inicio súbito, la morbilidad puede llegar hasta un 100% y la mortalidad varía de 20 a 30% (Lukert y Saif, 2003). Las cepas muy virulentas causan alta mortalidad reportadas desde 50 a 100% (Majo *et al.*, 2002; Abdel – Alim *et al.* 2003).

Las aves afectadas presentan depresión, picoteo de la cloaca, diarrea acuosa y blanquecina, anorexia, deshidratación, temores, postración y temperatura subnormal (Villegas y Banda, 2001; Ceva, 2002; Lukert y Saif, 2003).

La mortalidad dura de 4 a 8 días (excepcionalmente 10 ó 12) y muestra una típica curva de registro en forma de campana alcanzando el pico en el 3er ó 2do día (Gardin, 2003).

Forma Subclínica

Esta presentación se da en animales menores de 3 semanas, mayormente por cepas Variantes, y es el mayor problemas en áreas de intensa producción avícola (Banda *et al.*, 2003).

El grado de inmunosupresión depende de la virulencia del virus y de cuando se produce la infección (Jackwood, 2001). A mayor edad del ave, mayor cantidad de linfocitos B habrán migrado de la Bursa de Fabricio a los órganos linfoides secundarios, por lo que la inmunosupresión causada por el virus será transitoria.

Estas cepas Variantes no producen signos clínicos, ni mortalidad o lesiones de tipo inflamatorio como las cepas Clásicas de la enfermedad, no obstante, causan atrofia extremadamente rápida de la Bursa de Fabricio e inmunosupresión (Rosales, 1994). Estas cepas antigénicamente diferentes causan inmunosupresión en aves con adecuados niveles de anticuerpos contra las cepas Clásicas (Banda *et al.*, 2003).

La forma subclínica es prevalente en los Estados Unidos de América, donde causa pobre performance, desuniformidad en el lote, pobre conversión alimenticia e incremento de la susceptibilidad a otras enfermedades (Robinette, 2002; Banda *et al.*, 2003)

La inmunosupresión que causa la EIB conlleva a grandes pérdidas económicas en la industria avícola, por la reducción de las defensas del ave y el incremento de la susceptibilidad a algunas enfermedades infecciosas como Newcastle, hepatitis adenovíricas, coccidiosis, enfermedad de Marek, anemia aplásica – hemorrágica, dermatitis gangrenosa, laringotraqueitis, bronquitis infecciosa entre otras (Villegas y Banda, 2001; Lucio, 2003).

También incrementa la susceptibilidad a *Salmonella typhimurium* (Bautista *et al.*, 2004), *Escherichia coli*, *Staphilococcus aureus* e infecciones por *Eimeria sp.* (Anderson *et al.*, 1977; Villegas y Banda, 2001).

Las aves afectadas tempranamente con la EIB exhiben una pobre respuesta de anticuerpos en la vacunación contra la enfermedad de Newcastle (Genova, 2000), Bronquitis Infecciosa y en menor grado a Laringotraqueitis (Zavala, 1999; Villegas y Banda, 2001).

Se ha relacionado también a la EIB con la incidencia de Proventriculitis en pollos de carne, la cual se caracteriza por el agrandamiento y debilidad del proventrículo, microscópicamente existe una degeneración y necrosis de las glándulas del proventrículo acompañado de una marcada infiltración linfocítica del intersticio interglandular (Paitin – Jackwood *et al.*, 2004) No se ha comprobado que el virus de la EIB sea la causa directa de la enfermedad, no detectándosele en el proventrículo de aves afectadas y la proventriculitis puede presentarse en ausencia del virus de EIB (Paitin – Jackwood y Brown, 2003). La acción del EIB en la proventriculitis puede ser indirecta, por la inmunosupresión que causa (Paitin – Jackwood *et al.*, 2004).

Lesiones Macroscópicas

Macroscópicamente, las lesiones a nivel de la BF se observan a los 2 a 3 días post infección. La BF se encuentra aumentada de tamaño debido al edema e hiperemia, se observa en su superficie un trasudado amarillento

gelatinoso, las estriaciones longitudinales de la superficie se vuelven prominentes y el color cambia a crema. Al cuarto día suele duplicar su peso y tamaño normal y entonces comienza a decrecer, al quinto día tiene peso y tamaño normal pero continua atrofiándose y al octavo día tiene alrededor de la tercera parte de su peso original (Lasher y Shane, 1994; Ceva 2002; Lukert y Saif, 2003). El trasudado desaparece al retornar la bolsa a su tamaño normal y se torna gris durante y después del periodo de atrofia. La BF también puede presentar focos necróticos y hemorragias petequiales o equimóticas sobre la mucosa (Lukert y Saif, 2003).

Las cepas Variantes no causan reacción inflamatoria aguda ni agrandamiento de la BF, pero la infección resulta en una rápida y profunda atrofia de la misma. (Lasher y Shane, 1994, Elankumaran *et al.*, 2002).

A la necropsia de pollos que mueren de forma aguda por la EIB, se observa deshidratación de la fascia subcutánea y musculatura pectoral, también hemorragia en los músculos pectorales y muslos, uratos en los riñones y uréteres, esplenomegalia, degeneración hepática, ocasionalmente hemorragia en la unión del proventrículo y molleja (Lasher y Shane, 1994; Villegas y Banda, 2001; Ceva, 2002; Lukert y Saif, 2003).

Lesiones Microscópicas

En la BF, al primer día post infección se observa degeneración y necrosis de linfocitos en el área medular de los folículos. Los linfocitos son sustituidos por heterófilos, restos picnóticos y células retículoendoteliales hiperplásicas, pudiéndose observar también hemorragias.

Al 3er y 4to día todos los folículos están afectados, se observa edema severo, hiperemia y acumulación de heterófilos. Al declinar la reacción inflamatoria se desarrollan cavidades quísticas en las zonas medulares de los folículos, hay necrosis y fagocitosis de los heterófilos y células plasmáticas, y

fibroplasia en el tejido conjuntivo folicular, hay hiperplasia de la capa epitelial bursal esto produce una estructura glandular de células epiteliales cilíndricas con glóbulos de mucina.

Otros órganos linfoides como bazo, timo, tonsilas cecales, glándula de Harder, también sufren alteraciones similares pero en menor grado y con recuperación rápida (Ley *et al.* 1983; Lasher y Shane, 1994; Ceva, 2002; Lukert y Saif, 2003).

Las cepas Variantes causan una severa atrofia bursal con ausencia completa de una respuesta inflamatoria (Elankumaran *et al.* 2002).

En órganos no linfoides también se han reportado alteraciones en infecciones con la EIB. En el hígado y riñones se observa un incremento de focos linfoides ectópicos al 3er hasta el 10mo día post infección. En el hígado se observa los acúmulos de células linfoides en la región periportal y perivascular, también los sinusoides se observan ligeramente hiperémicos con aparentemente incremento del número de macrófagos y heterófilos. En los riñones, se observa acúmulo de células linfoides en el intersticio perivascular, edema, necrosis tubular, y material cristalino en secciones del riñón.

En estudios realizados en pollos libres de patógenos específicos (SPF), infectándolos con las cepas HPS-2 y GBF-1 de la EIB, la médula ósea evidenció lisis severa y reducción drástica de heterófilos mielocitos con núcleos picnóticos a los 2 y 3 días post infección. La microscopía electrónica mostró heterófilos mielocitos con encogimiento del citoplasma y condensación periférica de la cromatina nuclear. Las partículas del virus de la EIB no fueron detectadas en mielocitos alterados, lo que indica que la lisis de células de la médula óseas son selectivamente inducidas en heterófilo mielocitos en una etapa temprana después de la infección por EIB e independiente de la replicación del virus (Inoue *et al.* 1999).

Diagnóstico

Se realiza por la sintomatología, historia del lote, hallazgos de necropsia, evaluación histopatológica, serología, aislamiento viral y pruebas moleculares como RT/PCR (Lukert y Saif, 2003).

El aislamiento viral se realiza por la inoculación de muestras de Bursa de Fabricio (BF) o bazo en huevos embrionados, cultivos celulares y aves libres de patógenos específicos (SPF). En huevos embrionados se realiza vía saco vitelino en embriones de 6 a 8 días o vía membrana corioalantoidea en embriones de 9 a 11 días. La muerte embrionaria ocurre entre 3 y 5 días observándose lesiones como edema y hemorragias subcutáneas, hemorragias intracraneales, necrosis hepática y esplenomegalia (OIE, 2004); sin embargo las cepas variantes de la EIB no causan mortalidad embrionaria al ser inoculadas (Villegas y Banda, 2001; Lukert y Saif, 2003). Los cultivos celulares se realizan comúnmente en fibroblastos y células renales de embrión de pollo, así como también en líneas celulares como células vero, QT – 35 o BGM – 70 entre otras (Banda y Villegas, 2001; Ahasan *et al.*, 2002).

La prueba de ELISA es la empleada con mayor frecuencia para la evaluación de anticuerpos contra la EIB en parvadas de aves domésticas, tanto para el diagnóstico de la enfermedad como para evaluar los programas de vacunación (Lukert y Saif, 2003), ya que es económica, confiable, sensible, y capaz de proveer resultados rápidamente en un amplio número de muestras (Jackwood *et al.*, 1999)

Las pruebas moleculares han cobrado gran importancia, estas son utilizadas para la genotipificación del virus las cuales analizan principalmente la proteína viral VP2. La prueba de RT-PCR-RFLP, Polimorfismo en los fragmentos de restricción, por sus siglas en ingles “Restriction fragment length polymorphism”, provee un método rápido para diferenciar y tipificar aislamientos de campo a gran escala (Meir *et al.*, 2001). El RT-PCR-RFLP es una herramienta usada por muchos investigadores para genotipificar el virus presente en el campo (Banda

et al., 2001; Ikuta *et al.*, 2001; Meir *et al.*, 2001; Majo *et al.*, 2002; Lojkic *et al.*, 2003; Ashraf *et al.*, 2005).

Existe también otras pruebas moleculares para tipificar los virus de campo como el RT-PCR-RE, Restricción de Endonucleasas, (Dybing y Jackwood, 1996; Jackwood y Jackwood, 1997; Zorman – Rojs *et al.* 2003), Análisis de la movilidad de heteroduplos – HMA por sus siglas en inglés "Heteroduplex Movility Assay" (Banda *et al.*, 2004), RT-PCR-ELISA (Phong *et al.*, 2003), entre otras.

Diagnóstico Diferencial:

En la enfermedad clínica, el inicio súbito, morbilidad, plumas erizadas, aspecto decaído de las aves y presencia de sangre en las deyecciones pueden sugerir un brote agudo de coccidiosis. Sin embargo, en este caso no se observa crecimiento edematoso o hemorrágico de la Bursa de Fabricio ni hemorragias musculares

La nefrosis aguda puede estar presente en las aves que mueren por la EIB, sin embargo esto no es exclusivo de la EIB, muchos otros padecimientos pueden provocar nefrosis, como ciertas cepas nefrotóxicas del virus de bronquitis infecciosa, sin embargo, en este caso no existe cambios en la Bursa de Fabricio. La privación de agua ocasiona alteraciones del riñón y posible atrofia y coloración gris de la Bursa de Fabricio (Lukert y Saif, 2003).

La presencia de hemorragias musculares y petequias en la unión del proventrículo y molleja son similares a las de Enfermedad de Newcastle, Síndrome Hemorrágico tal vez por el virus de la Anemia Infecciosa (Lukert y Saif, 2003), intoxicación por sulfas, micotoxinas (Ceva, 2002), intoxicación por sal, deficiencia de vitamina K, entre otras; pero en estos casos a excepción de las Micotoxinas no existen cambios patológicos en la Bursa de Fabricio.

La deficiencia de vitamina A puede llevar a la presencia de exudado caseoso en la Bursa de Fabricio, sin embargo, las lesiones histopatológicas se restringen al epitelio bursal (Ceva, 2002)

La atrofia bursal no es exclusiva de la EIB, esta puede también ser causada por Enfermedad de Marek, Anemia Infecciosa, Micotoxicosis y otros agentes tóxicos (Fernández, 2001; Cardoso, 2002; Brown, 2003; Perozo – Marín *et al.* 2003), así como condiciones de estrés (Revidatti *et al.*, 2001; Brown, 2003; Guimarães, 2003)

La enfermedad de Marek, en etapa inicial causa daño bursal observándose atrofia folicular de la Bursa de Fabricio, la cual es similar a la causada por la EIB y Micotoxicosis (Brown, 2003). En estos casos, se recomienda anexar nervios para examen histopatológico y realizar pruebas serológicas para confirmar el diagnóstico.

La exposición de las aves a las micotoxinas pueden causar necrosis o atrofia de la Bursa de Fabricio y del Timo, del mismo modo también las condiciones adversas del medio ambiente causan cambios crónicos en los folículos bursales (Brown, 2003).

Prevención y Control

La bioseguridad es una importante medida en la prevención de las enfermedades aviares, sin embargo, el virus de la EIB es altamente resistente a las condiciones adversas del medio ambiente, resultando su permanencia en las instalaciones avícolas, por lo tanto, el control de esta enfermedad esta basada principalmente en la vacunación (Al – Natour *et al.*, 2004).

La limpieza apropiada y las desinfecciones son obligatorias y deben estar dirigidas a reducir la presión de los virus, no eliminándolo, lo cual no es factible bajo condiciones de campo. Una menor cantidad de estos retrasará la edad de

infección y consecuentemente mejorará las probabilidades de éxito de la vacunación (Gardin, 2003).

Los programas de hiperinmunización de los reproductores son muy usados para proveer a la progenie de inmunidad pasiva contra la EIB. Vacunaciones de reproductores a temprana edad con virus vivo y revacunaciones con vacunas inactivadas oleosas a las 18 semanas, proveen a la progenie de altos niveles de anticuerpos los cuales desaparecen a la 4ta a 5ta semana en pollos de carne (Naqi *et al.*, 1983; Ahmed y Akhter, 2003). Algunos avicultores han optado por un refuerzo más con vacuna inactivada contra la EIB a mitad de la postura para mantener así altos niveles de anticuerpos maternos durante todo el ciclo de producción y confiriendo uniformidad en la protección de la progenie proveniente de parvadas de reproductoras jóvenes y adultas (Lovell, 2000).

Los anticuerpos maternos protegen al pollo de infecciones tempranas con el virus de la EIB, por desgracia estos anticuerpos maternos también interfieren con la inmunización activa del pollito (Naqi *et al.*, 1983; Ahmed y Akhter, 2003; Lucio, 2003; Al-Natour *et al.*, 2004).

En pollos con altos niveles de anticuerpos maternos las cepas vacunales de virus vivo pueden ser neutralizadas y no producir una respuesta inmune adecuada, y en pollos con bajos niveles de inmunidad pasiva pueden sufrir de inmunosupresión causada por el mismo virus vacunal (Haddad *et al.*, 1997; Villegas y Banda, 2001). Sin embargo, existe una desuniformidad del nivel de anticuerpos maternos en pollos del mismo lote, aun en pollos de la misma madre, lo que ocasiona problemas para elaborar un programa de vacunación adecuado (Haddad *et al.*, 1997). Quizá lo más serio es que los niveles de anticuerpos maternos que interfieren con la vacuna son más bajos que los requeridos para proteger contra cepas de campo (Lucio, 2003).

El control de la EIB es por medio de vacunación con vacuna a virus vivo o inactivados pertenecientes al serotipo 1. Las vacunas a virus vivo han sido

clasificadas según su patogenicidad, capacidad de atravesar los niveles de anticuerpos maternos y capacidad invasiva, en vacunas suaves, vacunas intermedia y vacunas virulentas.

Actualmente existe contra la EIB vacunas complejo Antígeno Anticuerpo (Ag/Ac), compuestas por un virus vivo ligado a anticuerpos específicos para este virus. Este tipo de vacunas requiere de una sola dosis y puede ser administrada *in ovo* o al primer día de edad, la cual es segura y confiere una buena protección al desafío en niveles variables de anticuerpos maternos en pollos de carne (Hadad *et al.*, 1997; Corley *et al.*, 2001; Corley y Giambrone, 2002; Whitfill *et al.*, 2002). La cantidad anticuerpos específicos contra la EIB protege al virus vacunal de la neutralización de los anticuerpos maternos pero no impide la progresiva replicación del virus vacunal.

Se ha desarrollado también vacunas con fracciones del virus, proteína viral VP2, expresada en plantas transgénicas como *Arabidopsis thaliana* (Wu *et al.*, 2004) y en insectos (Pitcovski *et al.*, 1996), las cuales han mostrado una buena protección al desafío.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó en los ambientes del Laboratorio de Patología Aviar y del Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos durante los meses de marzo y abril del 2005.

Animales

Diseño y Tamaño muestral:

El tamaño muestral se calculó usando el Teorema del Límite Central con un “n” de 30 animales. De acuerdo a esto se usaron 264 aves, distribuidos en 4 grupo.

Se utilizaron 264 pollos de carne machos de la línea Ross 308, procedentes del mismo lote de reproductoras de 57 semanas de edad. Las aves fueron distribuidas en cuatro grupos de 66 pollos cada uno, A, B, C y D. Adicional a los

264 pollos, se usaron 18 pollos del mismo lote de madres para evaluación del nivel de inmunidad pasiva. El peso promedio inicial para todos los grupos fue de 40 g. Las aves fueron criadas sobre piso de cemento y cama de viruta de madera hasta los 45 días de edad.

Alimento y Agua

El alimento y el agua se administraron *Ad libitum* de acuerdo a la edad y requerimientos nutricionales. Se utilizó un alimento concentrado comercial.

Vacunas y Cepa de Desafío

Vacunas

Se utilizaron las siguientes vacunas a virus vivo:

- Cevac Transmune IBD[®], Laboratorios Ceva - Francia.
Cepa 2512 (Intermedia plus) Complejo vacunal Ag/Ac
- Bursaplex[®], Laboratorios Embrex- Estados Unidos.
Cepa 2512 (Intermedia plus) Complejo vacunal Ag/Ac
- Bursine[®] 2, Laboratorios Fort Dodge Animal Health.
Cepa Lukert (Intermedia suave)
- ViBursa-CE. Laboratorios Vineland.
Cepa CE. (Intermedia intermedia)

Adicionalmente, todas las aves fueron vacunadas contra la enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa en la planta de incubación y a los 16 días de edad con Nobilis[®]Mas+Clone30 y Cevac[®] VitaBron L respectivamente.

Cepa de Desafío

Se utilizó la cepa F52/70 del virus de la EIB, de los Laboratorios Intervet – Holanda, con un título de ELD₅₀ de 10³ por ml. Se administró una dosis de 50 uL /ave, aplicada por vía ocular.

Equipo y materiales para la crianza

Se utilizaron bebederos y comederos convencionales para la crianza de pollos de carne.

- Bandejas PVC para pollo bebe
- Bebederos tonguitos
- Comederos tipo tolva
- Bebederos tipo canaletta
- Campanas de calefacción
- Nordex plásticos de separación
- Separadores de madera y alambre
- Jabas de plástico para el transporte de las aves
- Equipo de limpieza y desinfección (escobas, rastrillos, escobillas, etc.)
- Mochila de desinfección
- Cama de viruta
- Cortinas de polipropileno blancas y negras
- Mangueras y válvulas de gas
- Termómetros digitales
- Balanza digital

Equipos y materiales para la toma y evaluacion de muestras

Para los exámenes serológicos:

- Agujas descartables 20 x ½
- Frascos de vidrio con tapa de goma, estériles.
- Algodón
- Alcohol
- Kit de ELISA Idexx Inc.
- Espectrofotómetro

Para la evaluación de Bursa de Fabricio:

- Equipo de necropsia (tijeras, pinzas, bisturí, etc.)
- Frascos de boca ancha con tapa para las muestras de histopatología
- Formol al 10%
- Microscopio de luz marca Olympus S.A.

Materiales para el procesamiento histopatológico:

- Parafina en escamas.
- Alcoholes etílicos al 100%, 95%, 70%.
- Xilol.
- Colorantes: Hematoxilina de Harris y Eosina.
- Neo Mount
- Láminas portaobjetos y laminillas cubreobjetos.
- Micrótopo marca Spencer
- Cuchillas.
- Baño María marca Lipshaw.
- Estufa marca Memmert.

Para evaluar parámetros productivos:

- Balanza mecánica marca Ohaus, para el peso corporal
- Balanza eléctrica marca Mettler, para el peso de las bursas

Para la obtención de Material fotográfico

- Microscopio Zeiss Axiostar Plus
- Cámara Fotográfica digital marca Kodak

MÉTODOS

Diseño Experimental

En la planta de incubación las aves fueron separadas en 4 grupos, según se indica:

Grupo A: Grupo de aves vacunadas al primer día de edad con la vacuna conteniendo el Complejo vacunal Ag/Ac (Cevac Transmune IBD[®]) aplicada por vía subcutánea.

Grupo B: Grupo de aves vacunadas al primer día de edad con la vacuna conteniendo el Complejo vacunal Ag/Ac (Bursaplex[®]) aplicada por vía subcutánea.

Grupo C: Grupo de aves vacunadas dos veces con un programa tradicional contra la EIB a los 10 y 18 días de edad con las vacunas Bursine[®] 2 y Vi-Bursa[®] CE respectivamente.

Grupo D: Grupo de aves no vacunadas contra la EIB - Control

Adicionalmente todos los grupos recibieron en la planta de incubación la vacuna contra la enfermedad de Marek vía subcutánea y la vacuna contra Newcastle y Bronquitis infecciosa vía aerosol.

Cronograma integral de Vacunación

Edad	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
1 día	Marek y Newcastle + Bronquitis Infecciosa			
	EIB: Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD [®]	EIB: Complejo Ag/Ac Bursaplex [®]	-	-
10 días			EIB: Bursine [®] 2	-
16 días	Newcastle + Bronquitis Infecciosa			
18 días			EIB: Vi-Bursa [®] CE	-

Cronograma de Actividades a lo largo del estudio.

Día	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
1	Toma de muestra para serología			
	Vacunación contra: Marek, Newcastle y Bronquitis Infecciosa			
	Vacunación contra EIB: Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD®	Vacunación contra EIB: Complejo Ag/Ac Bursaplex®	-	-
7	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
10			Vacunación contra EIB: Bursine 2	
14	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
16	Revacunación contra Newcastle y Bronquitis Infecciosa			
18			Vacunación contra EIB: Vi-Bursa® CE	
21	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
28	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
35	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
	Necropsia de 5 aves de cada grupo			
	Desafío de 45 aves de cada grupo			
39	Necropsia de 15 aves desafiadas de cada grupo			
42	Necropsia de 15 aves desafiadas de cada grupo			
	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
45	Toma de muestra Serología (10 aves x grupo)			
	Necropsia de 15 aves desafiadas de cada grupo			
	Necropsia de las aves sin desafiar de cada grupo			

Desafío Experimental

Al día 35 de edad, 45 aves de cada grupo fueron trasladadas al galpón de experimentación de la FMV-UNMSM, para ser desafiadas con la cepa F52/70 del virus de la EIB a una dosis de 50 uL /ave, aplicada por vía ocular. El resto de las aves permaneció en las instalaciones de crianza para ser evaluadas como grupos no desafiados.

Parámetro de Evaluación

A. Signos clínicos y mortalidad

Se registró la mortalidad diaria y semanal durante todo el experimento, las aves muertas fueron necropsiadas y examinadas para determinar la causa de muerte.

Diariamente, posterior al desafío, se realizó la observación clínica de todas las aves en busca de depresión, diarrea y mortalidad. La severidad de la diarrea se evaluó por la presencia de heces acuosas en las plumas de la zona alrededor de la cloaca, determinándose valores de 0 (sin diarrea), 1 (diarrea leve), 2 (diarrea moderada) y 3 (diarrea severa); ver figura 1.

Figura 1. Grados de diarrea según su severidad



Grado Cero (Sin diarrea)



Grado Uno (Diarrea leve)



Grado Dos (Diarrea moderada)



Grado Tres (Diarrea severa)

B. Evaluación de lesiones Macroscópicas

Para la evaluación de lesiones macroscópicas se sacrificaron:

- 5 aves por grupo antes del desafío a los 35 días de edad
- 15 aves desafiadas de cada grupo experimental al 4to, 7mo y 10mo día post desafío (39, 42 y 45 días de edad); y
- Las aves sin desafiar de todos los grupos a los 45 días de edad.

En todos los casos:

- Se registraron y fotografiaron las lesiones macroscópicas de la Bursa de Fabricio observadas a la necropsia, y,
- Se pesaron las aves y sus bursas para la obtención del Índice Bursal.

ÍNDICE BURSAL (IB)

Determina la proporción del peso de la Bursa de Fabricio con respecto al peso corporal, el cual es empleado para determinar la presencia o no de atrofia de este órgano (Guerrero,2001).

$$IB = \frac{\text{Peso de la bursa (gr.)}}{\text{Peso corporal (gr.)}} \times 1000$$

El IB obtenido fue evaluado para determinar los grados de atrofia del órgano. Se usó el criterio de interpretación descrito por Giambrone, en 1982.

1.5 - 3.5 = Bursa Normal

0.5 - 1.5 = Atrofia Bursal

≤ a 0.5 = Severa Atrofia Bursal

C. Evaluación de las lesiones Microscópicas

De todas las aves sacrificadas durante las fechas señaladas en el cronograma de actividades, fueron tomadas al azar 5 bolsas por grupo, las cuales fueron fijadas en formol al 10%, procesadas bajo el método convencional, teñidas con Hematoxilina-Eosina (H-E) y examinadas al microscopio de luz.

Las bolsas fueron examinadas histológicamente para determinar la severidad de lesiones como medio de evaluar el efecto patógeno de las vacunas aplicadas y el grado de protección conferida por la vacunación. Los exámenes histológicos se realizaron en el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la FMV-UNMSM.

La evaluación se realizó con una escala del 0 al 6 basada en lesiones características en la fase aguda de infección para un virus cepa estándar serotipo 1 (STC, Faragher 52/70) adaptada según lo descrito por Bolis *et al.* (2003). Los valores del 0 a 6 se dan de acuerdo a los cambios histopatológicos observados en folículos linfoides de la bursa de Fabricio y el tejido conjuntivo intersticial. Los valores de 0 y 1 fueron considerados como normales y a partir de 2 anormales.

- 0 Sin alteración.
- 1 Células con núcleo picnótico en la región medular de los folículos linfoides y discreta disociación del tejido conectivo intersticial, o depleción linfoide en la zona medular y/o descamación del cordón córtico-medular y/o epitelización central focal en la región medular.
- 2 Degeneración de células linfoepiteliales, y/o linfocitos y/o macrófagos o plasmocitos en la región medular y cortical del folículo linfoide, asociado a una discreta disociación e infiltración de células inflamatorias en el tejido conectivo intersticial. Durante la fase de recuperación, epitelio descamado y presencia de mitosis o escasas células linfoides en la zona medular del folículo linfoide.

- 3 Depleción linfoide en la zonas medular y cortical y/o severa degeneración de células linfopiteliales del folículo linfoide, asociado a un edema discreto e infiltración intersticial de células inflamatorias, además descamación y/o discreta invaginación epitelial e hiperplasia linfoide perivascular en el septum del tejido conjuntivo.
- 4 Degeneración celular de la zona medular y cortical, con moderada infiltración de células inflamatorias del folículo linfoide, intersticio y capa epitelial, y/o depleción folicular linfoide de células linfoides con escasas células linfoepiteliales, fibroplasia intersticial y algunos focos de invaginación.
- 5 Necrosis medular con formaciones quísticas, severa infiltración granulocítica en el parénquima y/o necrosis con hemorragia en el intersticio o folículo linfoide y/o folículos linfoides con invaginación epitelial o fibrosis y una severa fibroplasia intersticial.
- 6 Ausencia de folículos linfoides debido a necrosis hemorrágica, atrofia o fibrosis.

El valor final de las lesiones bursales se obtuvo con el promedio de las calificaciones de las bursas evaluadas.

D. Evaluación Serológica

Se colectaron muestras de sangre de 18 pollos de un día de edad (sin vacunación), para determinar el nivel de anticuerpos maternos contra la EIB.

Se tomaron muestras de sangre de 10 aves por grupo a los días 7, 14, 21, 28, 35 (antes del desafío), al día 42 (post desafío) y al día 45 (fin de campaña) para la evaluación de la respuesta serológica contra el virus de la EIB a lo largo del experimento.

La titulación de anticuerpos se realizó mediante la prueba de ELISA indirecta usándose un kit comercial de los laboratorios IDEXX.

E. Medición de los Parámetros Productivos

Fueron registrados:

- Peso corporal semanal e individual con la ayuda de una balanza electrónica.
- Consumo de alimento semanal y acumulado.

Con estos datos fueron analizados:

- El Índice de Conversión Alimenticia (I.C.A)

$$\text{I.C.A} = \frac{\text{Alimento consumido}}{\text{Peso corporal}}$$

- El Índice de Eficiencia Productiva (I.E.P.)

$$\text{I.E.P} = \frac{\text{Viabilidad} \times \text{Ganancia diaria de peso(g)} \times 100}{\text{I.C.A}}$$

F. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de variables se utilizó el programa SPSS for Windows, versión 11.0.

Los títulos de anticuerpos y parámetros productivos se evaluaron estadísticamente por la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía. Donde se evidenció diferencia significativa ($p < 0,05$) se realizó la prueba de Duncan.

Los índices bursales y calificación de lesiones microscópicas se evaluaron estadísticamente por la prueba de Kruskal Wallis.

V. RESULTADOS

SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos observados en aves vacunadas y no vacunadas fueron depresión y diarrea. Todos los grupos presentaron algunas aves con depresión a partir del 2do día post desafío, siendo esta más evidente en el grupo D, grupo control. Posteriormente se evidenció una disminución del número de aves deprimidas hasta el quinto día post desafío donde no se observó depresión. (Ver cuadro1 y figura 2).

Cuadro 1. Porcentajes (%) de aves con depresión desafiados con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

Grupo	Días Post desafío		
	2	3	4
A	30	25	15
B	25	25	20
C	30	25	15
D	40	25	20

Figura 2. Aves con depresión al 2do día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



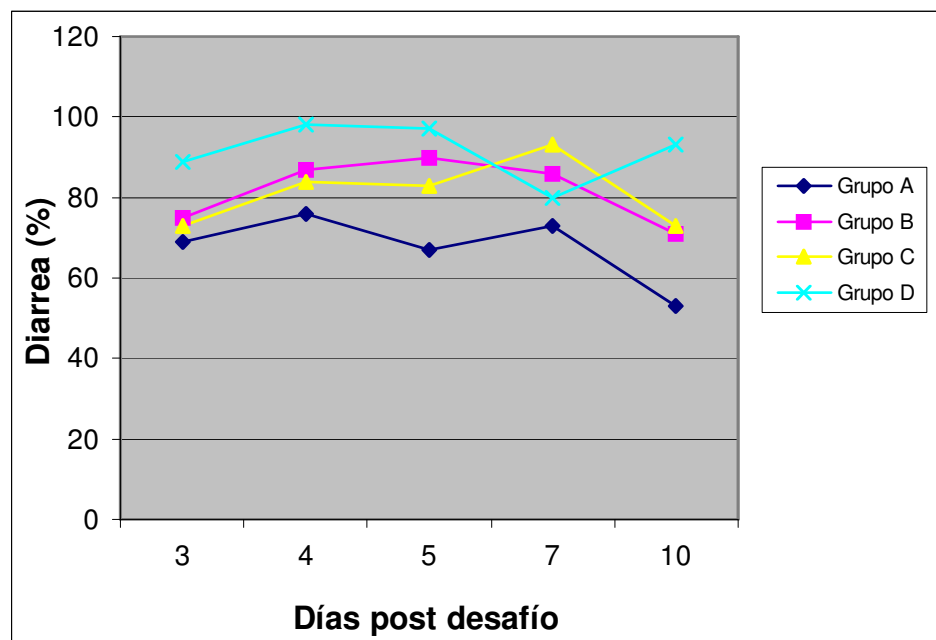
Igualmente, todos los grupos presentaron aves con diarrea a partir del 3er día post desafío siendo mayor en las aves no vacunadas (Grupo D). El porcentaje de aves con diarrea tuvo una tendencia creciente alcanzando su pico al 5to y 7mo día post desafío. Al 10mo día post desafío los casos de diarrea disminuyeron con mayor velocidad en las aves de los grupos vacunados con el complejo Ag/Ac (Grupo A y Grupo B), como se observa en el cuadro 2 y figura 3.

Se observa también que el grupo A presenta el menor porcentaje de aves con diarrea severa (4%) desapareciendo esta al 5to día post desafío, caso contrario a lo que ocurre con el grupo B en donde se ve un progresivo aumento de aves con diarrea severa (21%) hasta el 7mo día post desafío. En las aves del grupo C, vacunadas con el programa tradicional también aumenta los casos de diarrea severa (27%) hasta el 7mo día post desafío, siendo las aves del grupo D, grupo no vacunado, las que mostraron mayor porcentaje de casos de diarrea severa (33%) hasta el 7mo día post desafío (Ver cuadro 3).

Cuadro 2. Porcentaje (%) aproximado de aves con diarrea desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

Grupo	Días post desafío				
	3	4	5	7	10
A	69	76	67	73	53
B	75	87	90	86	71
C	73	84	83	93	73
D	89	98	97	80	93

Figura 3. Porcentaje (%) aproximado de aves con diarrea desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



Cuadro 3. Porcentaje (%) aproximado de aves con diarrea desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad, según el grado de severidad

Grupos	A					B					C					D				
	3	4	5	7	10	3	4	5	7	10	3	4	5	7	10	3	4	5	7	10
Días post desafío	3	4	5	7	10	3	4	5	7	10	3	4	5	7	10	3	4	5	7	10
Sin diarrea	31	24	33	27	47	25	11	10	14	29	27	16	17	7	27	11	4	3	0	7
Leve	47	47	47	53	47	52	34	27	36	36	40	47	47	33	47	31	40	47	27	33
Moderada	18	24	20	20	7	16	43	48	29	36	24	24	23	33	20	31	40	30	40	60
Severa	4	4	0	0	0	7	11	14	21	0	9	13	13	27	7	26	18	20	33	0

MORTALIDAD

No se presentó mortalidad por la EIB post desafío en ninguno de los grupos evaluados. Sólo el grupo B registró 1 ave muerta post desafío, al día 36 de edad, la cual presentó un cuadro de ascitis e hidropericardio.

LESIONES MACROSCÓPICAS

Todos los grupos presentaron edema de la BF hasta el 10mo día post desafío. Se destaca que las aves de los grupos A y B vacunadas con el complejo Ag/Ac evidenció edema de la BF al 4to día post desafío con un incremento en el porcentaje de aves con esta lesión al 7mo día post desafío y disminuyendo al 10mo día post desafío. Contrariamente en el grupo C, vacunado con el programa tradicional, ningún ave mostró edema al 4to día post desafío observándose esta lesión a partir del 7mo día en un 60% de las aves, observación que continuó aumentando hasta el final del experimento, al día 10mo en un 67% de aves. Las aves del grupo D, aves no vacunadas, presentaron severo edema, llegando a afectarse el 87 % de las mismas al

10mo día post desafío. En las diversas BF se observan también otras lesiones macroscópicas que se detallan en los cuadros 4 y 5, y en los apéndices 3 al 8.

Cuadro 4. Porcentaje (%) de aves con lesiones macroscópicas de la superficie externa de la Bursa de Fabricio desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

		Lesiones bursales	Grupo			
			A	B	C	D
Desafiados	4 días post desafío	Aparent. normal	80	33	87	40
		Edema	13	40	0	20
		Tamaño reducido	7	13	0	27
	7 días post desafío	Aparent. normal	40	13	40	27
		Edema	33	27	60	53
		Tamaño reducido	27	60	0	20
	10 días post desafío	Aparent. normal	7	7	7	0
		Edema	13	7	67	87
		Tamaño reducido	80	86	27	13
No desafiados	45 días de edad	Aparent. normal	0	0	75	100
		Edema	18	0	0	0
		Tamaño reducido	82	100	25	0

Cuadro 5. Porcentaje (%) de aves con lesiones macroscópicas de la superficie interna de la Bursa de Fabricio desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

		Lesiones bursales	Grupo			
			A	B	C	D
Desafiados	4 días post desafío	Aparent. normal	60	60	67	20
		Edema	0	0	0	20
		Hemorragia	0	27	0	13
		Hemorragia con material caseoso	0	0	0	0
	7 días post desafío	Aparent. normal	53	20	7	20
		Edema	20	33	33	33
		Hemorragia	13	40	27	20
		Hemorragia con material caseoso	0	0	0	0
	10 días post desafío	Aparent. normal	27	14	20	7
		Edema	0	14	33	53
		Hemorragia	7	29	0	20
		Hemorragia con material caseoso	20	0	13	20
No desafiados	45 días de edad	Aparent. normal	0	0	75	100
		Edema	18	0	0	0
		Hemorragia	0	0	0	0

INDICE BURSAL (IB)

Al día 35 de edad, antes del desafío, el IB promedio de cada grupo indicó ausencia de atrofia en todos los grupos experimentales teniendo el grupo B el menor IB (1.79) tal como se observa en el cuadro 6. Sin embargo, la evaluación individual de las BF indicó que el 40% de aves del grupo B y el 20% de las aves del grupo D sufrieron atrofia bursal antes del desafío como lo indica el cuadro 7.

Al 4to día post desafío, el grupo B fue el único grupo experimental con un IB promedio menor de 1.5 lo que indicó atrofia bursal. Este grupo tuvo 46.67% de aves con atrofia y 6.67% con atrofia severa como se detalla en el cuadro 8. El grupo A tuvo el mayor IB promedio y fue el único grupo con ausencia de aves con atrofia bursal.

El IB fue disminuyendo a través de los días, al 10mo día post desafío todos los grupos experimentales desafiados tuvieron un IB promedio menor de 1.5 indicado una atrofia bursal.

La evaluación del IB de las aves no desafiadas al día 45 de edad indicó al grupo C como el único sin atrofia bursal con un IB promedio de 1.63 y al grupo A como el grupo con el menor IB promedio con un valor de 0.87 como se detalla en el cuadro 9.

El análisis estadístico no determinó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ninguno de los grupos experimentales desafiados en sus respectivas edades, pero si se determinó una diferencia significativa ($p < 0.05$) en las aves sin desafiar de 45 días de edad entre los grupos A y B frente a los grupos C y D.

Cuadro 6. Índice Bursal Promedio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad y de aves sin desafiar

Grupo	Edad (días)				
	35	39	42	45	45 Sin desafiar
A	2.21	2.28	1.45	0.98	0.87
B	1.79	1.49	1.02	0.75	0.69
C	2.64	1.80	1.76	1.23	1.63
D	2.01	1.89	1.57	1.35	1.45

Cuadro 7. Calificación de las Bursas de Fabricio de aves a los 35 días de edad (Antes del desafío) según su IB, expresada en porcentaje (%)

Grupo	Normal	Atrofia	Atrofia severa
A	100	0	0
B	60	40	0
C	100	0	0
D	80	20	0

Cuadro 8. Calificación de las Bursas de Fabricio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad según su IB expresada en porcentaje (%)

Grupo	4 días post desafío			7 días post desafío			10 días post desafío		
	Normal	Atrofia	Atrofia severa	Normal	Atrofia	Atrofia severa	Normal	Atrofia	Atrofia severa
A	100	0	0	46.7	53.3	0	20	80	0
B	46.67	46.67	6.67	20	73.3	6.7	7.1	78.7	14.2
C	73.3	26.7	0	66.7	33.3	0	26.7	73.3	0
D	60	40	0	40	60	0	33.3	66.7	0

Cuadro 9. Calificación de las Bursas de Fabricio de aves de 45 días de edad no desafiadas según su IB, expresado en porcentaje (%)

Grupo	Normal	Atrofia	Atrofia severa
A	0	100	0
B	0	63.6	31.3
C	68.75	31.25	0
D	38.5	61.5	0

LESIONES MICROSCÓPICAS

La evaluación histopatológica de las BF antes del desafío (35 días de edad) indicó presencia de lesiones en todos los grupos con calificaciones uniformes de 2.8 con excepción del grupo A que tuvo menor severidad de lesiones (2.6), como se detalla en el cuadro 10 y apéndice 10.

A los 4 días post desafío se apreció depleción linfoide de moderada a severa, zonas de necrosis e infiltración de heterófilos y macrófagos, y edema en la mayoría de las bursas de los cuatro grupos lo cual aumentó los índices de calificación. En los grupos B y C estas lesiones fueron más severas (Ver apéndices 11 y 12).

Las lesiones bursales de los grupos A y D se hicieron más severas al transcurrir el tiempo, el grupo C mantuvo su calificación (4.0), el grupo B disminuyó su calificación al día 42 (4.0) pero volvió a aumentar al día 45 (4.2).

La evaluación histológica de la BF de las aves de 45 días no desafiadas, tuvo una marcada diferencia entre los grupos A y B frente al C y D. Los grupos A y B mostraron severa depleción linfoide, formaciones quísticas en diversos folículos y fibroplasia marcada, con calificaciones de 4.2 cada grupo, comparado con las calificaciones de 2.4 y 2.2 de los grupos C y D respectivamente.

El análisis estadístico no determinó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ninguno de los grupos experimentales desafiados, pero si se determinó una diferencia significativa ($p < 0.05$) en las aves sin desafiar de 45 días de edad, entre los grupos A y B frente a los grupos C y D.

Cuadro 10. Promedio de la calificación histopatológica de las Bursas de Fabricio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad y de aves sin desafiarse (n=5)

Grupo	Edad (días)				
	Pre desafío (35 días de edad)	Días post desafío			45 sin desafío
		39	42	45	
A	2.6	3.6	3.8	4.0	4.2
B	2.8	4.2	4.0	4.2	4.2
C	2.8	4.2	4.0	4.0	2.4
D	2.8	3.4	4.4	4.8	2.0

EVALUACIÓN SEROLÓGICA

El promedio de los títulos de anticuerpos al primer día de edad, previo a la vacunación, fue de 6534 con un coeficiente de variación de 20.8, indicando un alto nivel de anticuerpos maternos y una buena uniformidad del lote lo que fue igual para los cuatro grupos experimentales.

El nivel de anticuerpos en todos los grupos disminuyó al pasar las semanas mostrando distintos niveles de caída. Al día 7 de edad, el grupo B tuvo el mayor título de anticuerpos (GTM) y el menor coeficiente de variación (%) frente a los otros tres grupos experimentales, con valores de 4704 y 15.2% respectivamente, mientras que el grupo A tuvo el menor título de anticuerpos y el mayor coeficiente de variación con valores de 3865 y 32.3% respectivamente. Para el día 14 de edad, el grupo B tuvo el menor título de anticuerpos con 1017, frente a títulos de 2260, 2109 y 2092 de los grupos A, C y D respectivamente. Al día 21 de edad los títulos de los cuatro grupos experimentales fueron similares (525 a 599) y al día 28 de edad, el grupo A registró el mayor título de anticuerpos con 306, frente a títulos de 125, 156 y

140 de los grupos B, C y D, volviendo a ser similares al día 35 de edad. Durante estas semanas el análisis estadístico no determinó una diferencia significativa ($p>0.05$) entre los títulos de anticuerpos de los cuatro grupos.

Posterior al desafío, al día 42 de edad, el grupo B fue el grupo con mayor nivel de anticuerpos con un título de 731 frente a títulos de 204, 225 y 101 de los grupos A, C y D respectivamente. Al día 45 de edad en las aves desafiadas el grupo A tuvo el mayor título de anticuerpos con 1298 y un coeficiente de variación de 81%, seguido del grupo B con un título de 1113 y un coeficiente de variación de 54.8%. El grupo C y D tuvieron títulos de 7 y 10 respectivamente (Ver cuadro 11 y figura 4).

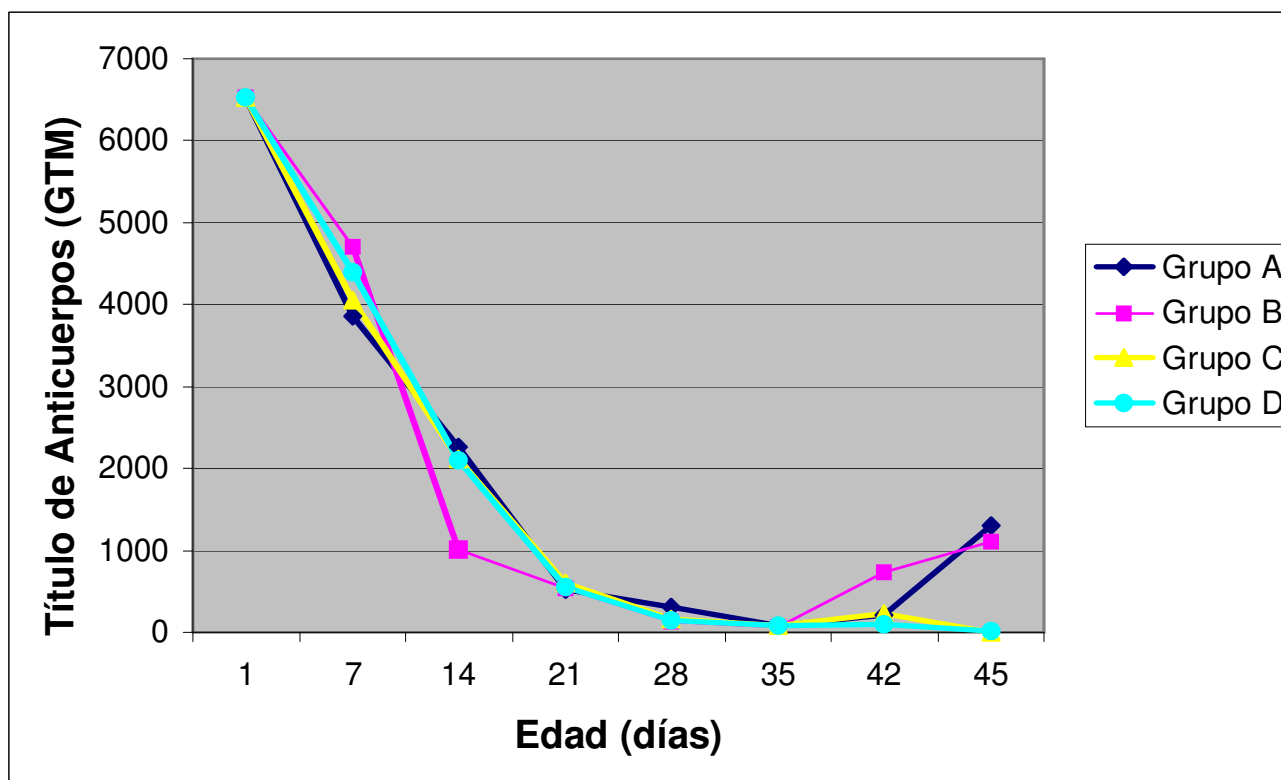
Cuadro 11. Títulos de Anticuerpos (GMT) y Coeficiente de Variación (%) por la prueba de ELISA, de aves desafiados con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

Días \ Grupos	1		7		14		21		28		35		42		45	
	T	CV	T	CV	T	CV	T	CV	T	CV	T	CV	T	CV	T	CV
A	6534	20.8	3865	32.3	2260	64	525	41.3	306	112	88	110.3	204	134	1298	81
B	6534	20.8	4704	15.2	1017	47.9	532	44	125	93	62	87.9	731	99.2	1113	54.8
C	6534	20.8	4054	25.6	2109	70.4	599	112.7	156	70.1	74	57.3	225	109	7	259.5
D	6534	20.8	4399	21.6	2092	39.5	562	45.4	140	53.9	77	98.8	101	36.4	10	269.4

T = Título de anticuerpos expresado en GMT

CV = Coeficiente de Variación

Figura 4. Títulos de Anticuerpos (GTM) por ELISA de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

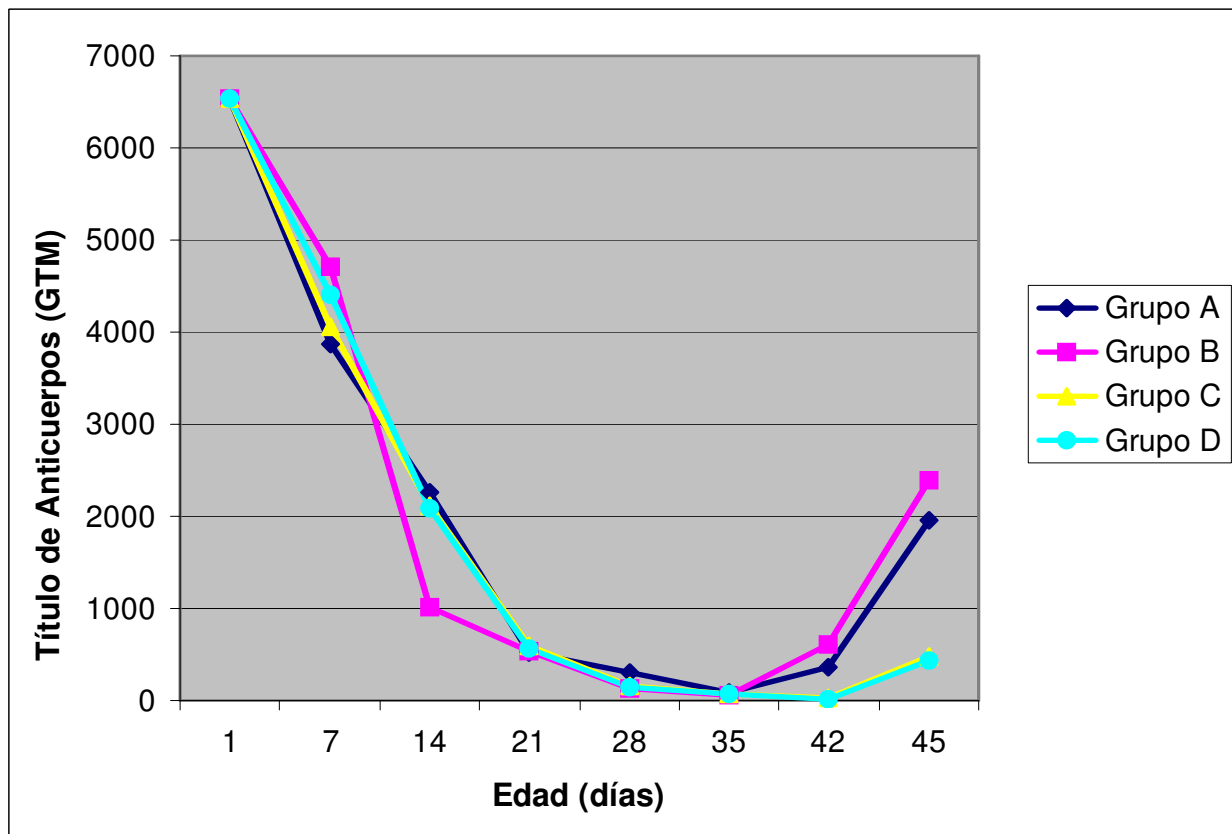


En las aves no desafiadas de los cuatro grupos, los títulos de anticuerpos aumentaron del día 35 al día 45 de edad, siendo más fuerte este aumento en los grupos A y B los cuales terminaron con mayores títulos de anticuerpos de 1951 y 2393 respectivamente frente títulos de 473 y 433 de los grupos C y D respectivamente (Ver cuadro 12 y figura 5).

Cuadro 12. Títulos de Anticuerpos (GMT) y Coeficiente de Variación (%) por la prueba de ELISA, de aves sin desafiar

Grupos \ Días	42		45	
	T	CV	T	CV
A	356	200.7	1951	72.9
B	603	133.9	2393	52
C	25	170.6	474	106.7
D	18	194.7	433	113.3

Figura 5. Títulos de Anticuerpos (GTM) por ELISA de aves sin desafiar



PARÁMETROS PRODUCTIVOS

Los pesos corporales fueron similares en todos los grupos durante las cinco semanas de crianza antes del desafío, teniendo siempre el grupo B el mayor peso corporal durante este periodo de tiempo; los índices de conversión alimenticia también fueron similares durante este tiempo como se detalla en el cuadro 13.

Cuadro 13. Peso Corporal e I.C.A semanal de aves antes del desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

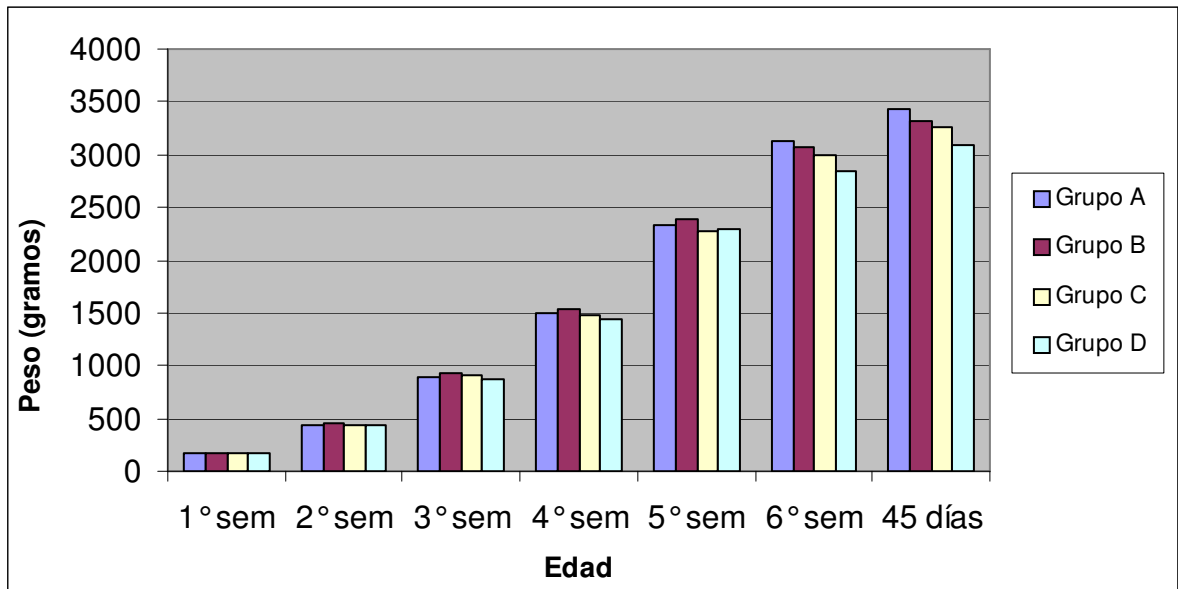
Semana	Peso corporal (gr.)				I.C.A.			
	A	B	C	D	A	B	C	D
1	170.51	172.88	165.92	161.83	0.95	0.91	0.81	0.85
2	432.7	448.51	439.64	435.6	1.13	1.12	1.14	1.04
3	892.14	930.54	902.52	870.19	1.26	1.25	1.24	1.22
4	1488.89	1530.69	1470.61	1437.05	1.44	1.43	1.37	1.44
5	2325.96	2394.25	2281.77	2289.91	1.54	1.52	1.51	1.54

Durante el periodo de desafío (desde los 35 días hasta los 45 días de edad), el grupo A tuvo una ganancia de peso mayor que todos los otros grupos, siendo el grupo D el de menor ganancia de peso como se detalla en el cuadro 14 y figura 6.

Cuadro 14. Ganancia de peso corporal de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad

Grupo	Peso Promedio Antes del desafío	Peso Promedio Fin del desafío	Ganancia de Peso durante el desafío
A	2325.96	3426.40	1100.44
B	2394.25	3320.43	926.18
C	2281.77	3263.60	981.83
D	2289.91	3081.73	791.82

Figura 6. Peso corporal semanal de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad durante todo el estudio



A los 45 días en las aves desafiadas el grupo A tuvo el mejor I.C.A e I.E.P y el grupo D el peor, estos resultados se observan en el cuadro 15.

Cuadro 15. Ganancia de Peso, I.C.A e I.E.P a los 45 días de edad de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 de edad

Grupo	Ganancia De Peso (g.)	I.C.A	I.E.P
A	1100.44	1.59	444.18
B	926.18	1.69	392.14
C	981.83	1.65	434.15
D	791.82	1.79	360.44

Durante la 5ta semana y los 45 días de edad en las aves no desafiadas, el grupo D tuvo una mayor ganancia de peso (1120.71 g.) que los otros grupos. Este mismo grupo terminó con un I.C.A mejor que los otros grupos (Ver cuadro 16).

El análisis estadístico no determinó diferencias significativas ($p > 0.05$) en los pesos corporales finales entre ninguno de los grupos experimentales.

Cuadro 16. Ganancia de Peso, I.C.A e I.E.P a los 45 días de edad de aves sin desafiar

Grupo	Ganancia de peso	I.C.A.	I.E.P
A	848.4	1.77	369.32
B	686.84	1.72	363.12
C	936.04	1.69	417.86
D	1120.71	1.70	420.56

VI. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad protectora de las vacunas conteniendo el complejo antígeno anticuerpo (Ag/Ac) de la EIB en pollos de carne desafiados con la cepa Clásica F52/70. Contrariamente a lo que suele ocurrir en campo con los brotes de enfermedad clínica, en el presente estudio realizado bajo condiciones experimentales, después del desafío no se registró mortalidad por la EIB, sólo un ave del grupo B murió a los 36 días de edad por ascitis e hidropericardio. Similares resultados han sido reportados por Haddad *et al.* (1997); Bolis *et al.* (2003); Rautenschlein *et al.* (2003); Pérez (2005), donde cepas Clásicas y cepas de alta virulencia no causaron mortalidad en aves vacunadas. Estas diferencias en el comportamiento clínico de las aves criadas bajo condiciones experimentales se deben a las diferentes condiciones de crianza y manejo. En la industria, las aves son criadas sobre piso de tierra, la densidad poblacional es muy alta y los factores de stress son frecuentes.

Los signos clínicos observados a partir del 2do día post desafío en las aves desafiadas a los 35 días de edad fueron depresión y diarrea. El corto periodo de incubación y las manifestaciones clínicas observadas en nuestro estudio fueron compatibles con los signos que ocasiona la forma clínica de una cepa clásica del EIB en pollos de entre 3 a 6 semanas de edad (Lukert y Saif, 2003).

El signo más característico de la enfermedad clínica es la diarrea (Villegas y Banda, 2001; Lukert y Saif, 2003). Los casos de aves con diarrea se observaron al 3er día post desafío, viéndose el mayor porcentaje de aves afectadas al 5to y 7mo día post desafío, disminuyendo al 10mo día, estas observaciones son similares a las reportadas por Pérez (2005), lo que indica una recuperación natural del ave frente al daño causado por el virus en las células de las vellosidades del intestino donde tiene una replicación primaria. En el presente estudio, los casos de diarrea fueron más severos en las aves del grupo D, aves no vacunadas, que en las aves de los grupos vacunados y fue posiblemente uno de los principales factores que influyeron en la diferencia de los parámetros productivos a pesar de no existir una diferencia estadística significativa ($p > 0.05$).

El índice bursal (IB) es usado para determinar atrofia de Bursa que puede ser causada por virus de Gumboro de campo, vacunales e inclusive algún otro agente inmunosupresivo como agentes tóxicos alimenticios principalmente micotoxinas, o también factores de stress (Fernández, 2001; Revidatti *et al.* 2001; Cardoso, 2002; Guimarães, 2003; Perozo – Marín *et al.* 2003). Los valores de IB promedio por grupo al día 35 de edad, indicaron bursas normales, mostrando el grupo B tendencia a la atrofia bursal. Esto probablemente es consecuencia de la replicación en la BF de la cepa vacunal de este grupo considerada como intermedia plus la cual posee mayor grado de patogenicidad que otras. Sin embargo, cabe destacar que el grupo A vacunado también con un complejo vacunal antígeno anticuerpo conteniendo la misma cepa no mostró el daño bursal observado en las aves del grupo B, esto demostraría que las vacunas de este tipo no son idénticas, habiendo al parecer diferencias en la concentración de anticuerpos en el complejo, y por lo tanto diferencias en la protección al daño y consecuente atrofia de la BF como lo indicó el IB. Estos resultados coinciden con estudios previos realizados por Reyes (2000) y Guerrero (2001) quienes en aves vacunadas con cepas intermedias plus encontraron BF con tendencia a la atrofia. En nuestro estudio en ninguno de los dos grupos vacunados con el complejo antígeno anticuerpo se llegó a observar un IB promedio de atrofia previo al desafío, solo se observó una tendencia a la

atrofia. Haddad *et al.* (1997) reportaron IB menores e indicativos de atrofia bursal ocasionado por la vacuna conteniendo el complejo antígeno anticuerpo.

La evaluación histopatológica de las BF antes del desafío mostró moderada depleción linfocítica en todos los grupos, lo que se podría deber a una replicación del virus vacunal contra la EIB y daño de la BF por esta causa. Similares hallazgos fueron reportados por Mohamed *et al.* (1996), Haddad *et al.* (1997), Reyes (2000), Guerrero (2001), Sellers *et al.* (2001) y Rautenschlein *et al.* (2003). De otro lado, las BF del grupo control no vacunado mostraron igualmente depleción linfocítica moderada con calificaciones similares a los grupos vacunados, lo que podría deberse a una transmisión horizontal de una cepa de virus, por ser ubicuo y porque las condiciones de crianza no fueron de estricto aislamiento. También es de recalcar que esta prueba determina daño bursal que no es exclusivo del virus de Gumboro. Factores de stress (Revidatti *et al.*, 2001; Guimarães *et al.*, 2003) o agentes tóxicos alimenticios pueden también causar este daño (Fernández, 2001; Cardoso, 2002; Brown, 2003; Perozo – Marín *et al.*, 2003).

Posterior al desafío, los IB de los grupos A y B fueron menores que los otros dos grupos, evidenciando atrofia a los 39 y a los 42 días de edad respectivamente, esto coincide con lo reportado por Haddad *et al.* (1997) quienes desafiando pollos vacunados y sin vacunar con una cepa clásica de la EIB, encontraron un IB menor en pollos vacunados con la vacuna complejo antígeno anticuerpo al primer día de edad vía subcutánea, que en pollos vacunados con una vacuna intermedia a los 12 días de edad y en pollos control, no vacunados.

Aún cuando en la evaluación histopatológica post desafío el grupo D no vacunado mostró al 3er día post desafío el menor daño bursal, al 7mo y 10mo día post desafío (39 y 45 días de edad) este grupo presentó el mayor daño de la BF, indicando que probablemente aves no expuestas y desafiadas con virus patogénicos tienen una más lenta replicación viral primaria a nivel intestinal tardando más en llegar al órgano blanco que es la Bursa, esto se corrobora con

la mayor intensidad y porcentaje de aves afectadas con diarrea en las aves de este grupo. Las severas lesiones y cambios crónicos encontradas en la Bursa en las aves de todos los grupos a los 45 días de edad (10mo día post desafío) fueron similares a las detalladas por Lukert y Saif, (2003).

A los 35 días de edad (Antes del desafío) los niveles de anticuerpos mostraron su mínimo nivel en todos los grupos, lo que podría deberse al catabolismo de los anticuerpos maternos y/o a la ausencia de un nivel de seroconversión detectable de los grupos vacunados a esta edad. Similares resultados fueron reportados por Haddad *et al.* (1997), Corley *et al.* (2001), Corley y Giambrone (2002). Aun cuando las aves presentaban bajo nivel de anticuerpos al momento del desafío, se observó una protección contra el virus de desafío ya que los grupos vacunados tuvieron menos lesiones que el grupo sin vacunar, lo que evidenciaría que los mecanismos de inmunidad celular tienen una función importante en la protección contra el desafío de la EIB, tal como fue reportado por Haddad *et al.* (1997), Corley y Giambrone (2002) y Rautenschlein *et al.* (2003).

A los 42 días de edad se observó un ligero incremento del nivel de anticuerpos en todos los grupos, pero para el día 45 de edad solo los grupos A y B tuvieron mayores niveles de anticuerpos, siendo superior en el grupo A. Estos resultados coinciden con los encontrados por Haddad *et al.* (1997), quienes observaron también mayor título de anticuerpos posterior al desafío en aves vacunadas con el complejo vacunal Ag/Ac que en aves vacunadas con una vacuna intermedia sin anticuerpos o que en aves no vacunadas. Además, ha sido señalado que las cepas más fuertes son más antigénicas y dan más títulos de anticuerpos (Castro – Pozo, 1994; Rautenschlein *et al.*, 2003; Pérez, 2005). De otro lado los bajos niveles de anticuerpo de los grupos C y D podrían deberse a una replicación tardía del virus y/o a una menor estimulación de las células B de memoria por parte del virus vacunal. Las vacunas complejo Ag/Ac permanecen por largos periodos de tiempo adosadas a las células dendríticas foliculares de la BF y bazo y en los centros germinales; esta manera de preservación de antígeno se cree que juega un rol importante en la generación

de células B de memoria y en el mantenimiento por largo tiempo de la respuesta humoral (Jeurissen *et al.*, 1998; Corley *et al.* 2001), aunque el mecanismo de acción de este complejo vacunal no está aun claro.

En las aves no desafiadas a los 42 días de edad también se evidenciaron un aumento del nivel de anticuerpos en los grupos A y B, terminado la campaña con títulos de 1951 y 2393 respectivamente. Como ya se ha mencionado anteriormente las vacunas conteniendo cepas intermedias plus son más patogénicas e inducen mayores niveles de anticuerpos. También fue evidente a la evaluación histopatológica de las BF de las aves no desafiadas de estos dos grupos (A y B), una severa depleción linfóide, fibroplasia y folículos linfoides con formaciones quísticas en su interior, que podrían ser causadas por el EIB, teniendo calificaciones de hasta 4.2, lo cual se debería a transmisión mecánica de otro virus de la EIB y/o factores inmunosupresores medioambientales como estrés por calor, que ocurrió en ese momento en donde se encontraban estos grupos afectando fuertemente a las aves lo cual también repercutió en el consumo de alimento y ganancia de peso. La ausencia de anticuerpos en los grupos C y D no desafiados evidencia que estas aves no fueron expuestas a la cepa patogénica de desafío y esto se corrobora también con la ausencia de signos de enfermedad clínica en las aves de este grupo.

Con respecto a los parámetros productivos no se determinó diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los pesos de los cuatro grupos a lo largo del estudio, sin embargo, el grupo A vacunado con uno de los complejos Ag/Ac mostró ser el mejor protegido de la enfermedad clínica frente a un desafío con una cepa patogénica, ya que este mostró la mayor ganancia de peso y el mejor I.C.A en comparación a los otros grupos (1100.44 y 1.59 respectivamente). Resultados similares han sido reportados por Kelemen *et al.* (2000) donde durante el periodo de desafío, los pollos vacunados con el complejo Ag/Ac tuvieron mayor peso corporal que las aves vacunadas con una vacuna convencional no ligada a anticuerpos.

El grupo A tuvo 308.62 gramos más de ganancia que el grupo control que fue el de menor ganancia de peso corporal durante el desafío, siendo también

el de mayor peso corporal de las aves desafiadas al término del experimento, terminando la campaña con 344.67 gramos más que el grupo control y 105.97 gramos más que el grupo B, el cual tuvo el segundo mejor peso corporal del experimento. Las diferencias encontradas entre las vacunas complejo Ag/Ac, conteniendo ambas el mismo virus vacunal 2512, se puede deber a que las vacunas son producidas por diferentes compañías las cuales pueden contener diferentes cantidades de anticuerpos específicos, los datos sobre composición exacta de cada vacuna es información confidencial de las empresas (Iván *et al.*, 2005). Se ha demostrado que la cantidad de anticuerpos en el complejo vacunal Ag/Ac podría ejercer una influencia en el inicio y el grado de replicación del virus (Iván *et al.*, 2005).

Los resultados del presente estudio evidencian que los programas vacunales confieren una buena protección a la enfermedad clínica frente al desafío experimental con la cepa F52/70 y que dentro de los grupos vacunados las vacunas conteniendo un complejo Ag/Ac indujeron mejor protección, siendo a su vez la del grupo A la que mostró inducir mejor resistencia al desafío lo cual fue medido por los signos clínicos, lesiones bursales y sobretodo por los resultados de parámetros productivos.

VI. CONCLUSIONES

- Los grupos vacunados fueron protegidos del desafío con la cepa F52/70 de la EIB, lo cual fue evidente por que presentaron signos clínicos y lesiones bursales macroscópicas y microscópicas menos severos, así como mejor peso corporal (182 a 345 gr. +) y mejor eficiencia productiva (32 a 84 puntos +) que el grupo control no vacunado.
- Los dos grupos vacunados con vacunas complejo antígeno anticuerpo al primer día de edad vía subcutánea mostraron mejor protección que el grupo con el programa de vacunación tradicional usando vacunas intermedias vivas a los 10 y 18 días de edad. De estos dos grupos vacunados con los complejos antígeno anticuerpo, el grupo A mostró mejor protección en lo referente a signos clínicos, lesiones bursales y parámetros productivos, como peso corporal (106 gr. +) y eficiencia productiva (52 puntos +) que el grupo B.
- Aún cuando se obtuvieron diferencias en signos, lesiones macroscópicas y microscópicas y principalmente en parámetros productivos entre los grupos vacunados y no vacunado, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. **Abdel-Alim, G.; M. Awaad; Y. Saif. 2003.** Characterization of Egyptian Field Strains of Infectious Bursal Disease Virus. *Rev. Avian disease* 47:1452 – 1457.
2. **Ahasan, M.; K. Hossain; M. Islam. 2002.** Adaptation of infectious bursal disease virus (IBDV) on vero cell line. *J. Biol. Sci.* 2(9): 633 – 635.
3. **Ahmed, Z.; S. Akhter. 2003.** Role of Maternal Antibodies in Protection Against Infectious Bursal Disease in Commercial Broilers. *Rev. International Journal of Poultry Science* 2(4): 251 – 255.
4. **Al-Natour, M.; L. Ward; Y. Saif; B. Stewart-Brown; L. Keck, 2004.** Effect of Different Levels of Maternally Derived Antibodies on Protection Against Infectious Bursal Disease Virus. *Rev. Avian disease* 48:177 – 182.
5. **Anderson, W.; W. Reid; P. Lukert; O. Fletcher. 1977.** Influence of Infectious Bursal Disease on the development of Immunity to *Eimeria tenella*. *Rev. Avian disease* 21(4):637 – 641.
6. **Ashraf, S.; G. Abdel-Alim; M. Al-Natour; Y. Saif. 2005.** Interference Between Mild and Pathogenic Strains of Infectious Bursal Disease Virus in Chickens. *Rev. Avian diseases* 49:99 – 103.

7. **Banda, A; P. Villegas. 2001.** Gumboro: Métodos de Diagnóstico e Interpretación de Resultados. X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar. Georgia 2001.
8. **Banda, A.; P. Villegas; J. El-Attrache; C. Esteves. 2001.** Molecular Characterization of Seven Field Isolates of Infectious Bursal Disease Virus Obtained from Commercial Broiler Chickens. Rev. Avian disease 45:620 – 630.
9. **Banda, A.; P. Villegas; J. El-Attrache. 2003.** Molecular Characterization of Infectious Bursal Disease Virus from Commercial Poultry in the Unites Status and Latin America. Rev. Avian disease 47:87 – 95.
10. **Banda, A; P. Villegas. 2004.** Genetic Characterization of Very Virulent Infectious Bursal Disease Viruses from Latin America. Rev. Avian disease 48:540 – 549.
11. **Banda, A.; P. Villegas; J. El-Attrache. 2004.** Heteroduplex Mobility Assay for Genotyping Infectious Bursal Disease Virus. Rev. Avian disease 48:851 – 862.
12. **Bautista, D.; S. Elankumaran; R. Heckert. 2004.** Effect of Variant Infectious Bursal Disease Virus (E/Del) on *Salmonella typhimurium* Infection in Commercial Broiler Chickens. Rev. Avian diseases 48:361– 369.
13. **Bolis, D.; F. Paganini; V. Simon; M. Zuanaze; N. Scanavini; A. Correa; N. Ito. 2003.** Gumboro disease: Evaluation of serological and anatomopathological responses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. Rev. Brasileira de Ciencia Avícola. 5 (2): 137-146.
14. **Brandt, M.; K. Yao; M. Liu; R. Heckert; V. Vakharia. 2001.** Molecular determinants of virulence, cell tropism, and pathogenic phenotype of Infectious Bursal Disease Virus. Rev. Journal Virology 75(24):11974 – 11982.
15. **Brown, T. 2003.** Pathology of Immunosuppressive Diseases. En: Curso: Diagnóstico Patológico en Aves. Lima – Perú. 18 al 20 Setiembre 2003.

16. **Cardoso, B. 2002.** Micotoxinas como factor Inmunosupresor. En: V Seminario Internacional en Ciencias Avícolas. Bolivia. Agosto 2002.
17. **Castro – Pozo, C. 1994.** Evaluación de Parámetros Productivos y Respuesta Inmune en Pollos de Engorde Vacunados contra dos programas de vacunación contra la Enfermedad de Gumboro. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
18. **Ceva. 2002.** Gumboro Disease. En : Cevac Transmune EIB – Corporate Communications Standards. Pp. 1 –22.
19. **Corley, M.; J. Giambrone; T. Dormitorio. 2001.** Detection of Infectious Bursal Disease Vaccine Viruses in lymphoid tissues after in ovo vaccination of specific-pathogen-free embryos. Rev. Avian disease 45:897 – 905.
20. **Corley, M. J. Giambrone. 2002.** Immunosuppression in Specific-Pathogen-Free Broilers Administered Infectious Bursal Disease Virus Vaccines by In Ovo Route. Rev. Avian diseases 46:810 – 815.
21. **Di Fabio, J.; A. De Castro; Y. Gardin; L. Rossini; D. Toquin; N. Eterradosi. 1999.** La Enfermedad de la Bolsa de Fabricio (EIBF) por cepas de alta virulencia se propagan a Latinoamérica. Rev. Avicultura Profesional. 17(9): 15 – 18.
22. **Dolz, R.; N. Majo; G. Ordóñez; C. Porta. 2005.** Viral Genotyping of Infectious Bursal Disease Viruses Isolated from the 2002 Acute Outbreak in Spain and Comparison with Previous Isolates. Rev. Avian disease 49:332 – 339.
23. **Dormitorio, T.; J. Giambrone; L. Duck. 1997.** Sequence Comparisons of the Variable VP2 Region of Eight Infectious Bursal Virus Isolates. Rev. Avian disease 41:36 – 44.
24. **Dybing, J.; D. Jackwood. 1996.** Restriction Analysis of the MD Infectious Bursal Disease Virus Strain. Rev. Avian disease 40:931 – 937.
25. **Elankumaran, S.; R. Heckert; L. Moura. 2002.** Pathogenesis and Tissue Distribution of a Variant Strain of Infectious Bursal Disease Virus in Commercial Broiler Chickens. Rev. Avian diseases 46:169 – 176.

26. **Fernandez, R. 2001.** Efecto de las micotoxinas como agente Inmunosupresor en los programas de vacunación de las aves. En: XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Guatemala 2001.
27. **Gardin, Y. 2003.** Enfermedad de Gumboro muy virulenta en Latinoamérica: Puntos importantes y Consecuencias prácticas. En: XVIII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Bolivia.
28. **Genova, K. 2000.** Influence of the Infectious Bursal Disease Virus strains on the avian immune system. *Rev. Experimental Pathology and Parasitology* 4:27 – 30.
29. **Giambrone, J. 1982.** Control of infectious bursal disease. ANR. Information. In Pérez, C. 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 F 52/70. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
30. **Guerrero, D. 2001.** Evaluación de la patogenicidad de las cepas vacunales intermedias S-706 y 2512 del virus de Gumboro en la Bursa de Fabricio en pollos de carne. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
31. **Guimarães, E.; A. Vasconcelos; N. Martins; R. Oliveira; L. Moro; J. Nunes; F. Santos. 2003.** Porcentagem de parênquima e índice apoptótico da bolsa cloacal em frangos de corte em ambiente de conforto e estresse térmico. *Rev. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 55(2).
32. **Haddad, E.; C. Whitfill; A. Avakian; C. Ricks; P. Andrews; J. Thoma; P. Wakenell. 1997.** Efficacy of a Novel Infectious Bursal Disease Virus Immune Complex Vaccine in Broiler Chickens. *Rev. Avian disease* 41:882 – 889.
33. **Hirai, K.; S. Shimakura. 1974.** Structure of infectious bursal disease virus. *Rev. Journal Virology* 14(4):957 – 964.

34. **Hudson, J.; F. Hoerr; S. Parker; S. Ewald. 2002.** Quantitative measures of disease in broilers breeder chicks of different major histocompatibility complex genotypes after challenge with infectious bursal disease virus. *Rev. Avian disease* 46:581 – 592.
35. **Icochea, E.; M. Alba; R. Gonzáles; M. Contreras; E. Dávila; S. Mengel-Whereat. 2002.** Identificación de virus de la enfermedad de Gumboro en el Perú por ELISA de captura de antígeno. *Memorias de la XXVII Convención Anual Asociación Nacional de Especialistas de Ciencias Avícolas* 1-4 de Mayo. Puerto Vallarta, México. pp. 1-3.
36. **Ignjatovic, J.; S. Sapats. 2001.** Confirmation of the existence of two distinct genetic groups of infectious bursal disease virus in Australia. *Rev. Australian Veterinary journal* 80(11):689 – 694.
37. **Ikuta, N.; J. El-Attrache; P. Villegas; M. Garcia; R. Lunge; A. Fonseca; C. Oliveira; E. Marques. 2001.** Molecular Characterization of Brazilian Infectious Bursal Disease Viruses. *Rev. Avian disease* 45:297 – 306.
38. **Inoue, M.; A. Fujita; K. Maeda. 1999.** Lysis of Myelocytes in Chickens Infected with Infectious Bursal Disease Virus. *Vet Pathol* 36:146 – 151.
39. **Ivan, J.; M. Velhner; K. Ursu; P. Germán; T. Mató; C. Drén; J. Mészáros. 2005.** Delayed vaccine virus replication in chicken vaccinated subcutaneously with an immune complex Infectious Bursal vaccine: Quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Rev. The Canadian Journal of Veterinary Research* 69:135 – 142.
40. **Jackwood, D.; Y. Saif; J. Hughes. 1982.** Characteristics and Serologic Studies of Two Serotypes of Infectious Bursal Disease Virus in Turkeys. *Rev. Avian disease* 26 (4): 871 – 882.
41. **Jackwood, D.; R. Jackwood. 1997.** Molecular Identification of Infectious Bursal Disease Virus Strains. *Rev. Avian disease* 41:97 – 104.
42. **Jackwood, D.; S. Sommer; E. Odor. 1999.** Correlation of Enzyme-linked Immunosorbent Assay Titers with Protection Against Infectious Bursal Disease Virus. *Rev. Avian disease* 43:189 – 197.

43. **Jackwood, D. 2001.** Infectious Bursal Disease: Worldwide Situation. En: X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar. Georgia 2001.
44. **Jeurissen, S.; E. Janse.; P. Lehrbach; E. Haddad; A. Avakian; C. Whitfill. 1998.** The work mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. Rev. Immunology 95(3):494 – 500.
45. **Kelemen, M.; K. Forgách; J. Iván. 2000.** Pathological and immunological study of an *in ovo* complex vaccine against infectious bursal disease. En: Ivan, J.; M. Velhner; K. Ursu; P. Germán; T. Mató; C. Drén; J. Mészáros. 2005. Delayed vaccine virus replication in chicken vaccinated subcutaneously with an immune complex Infectious Bursal vaccine: Quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. Rev. The Canadian Journal of Veterinary Research 69:135 – 142.
46. **Kim, I-J; M. Gagic; M. Sharma. 1999.** Recovery of antibody – producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. Rev. Avian disease 43:401 – 413.
47. **Lasher, H.; S. Shane. 1994.** Infectious bursal disease. Rev. World's Poultry Science Journal. 50: 133 - 158, July 1994.
48. **Ley, S.; R. Yamamoto; A. Bickford. 1983.** The pathogenesis of Infectious Bursal Disease: Serologic, Histopathologic, and clinical chemical observations. Avian disease 27(4):1060 – 1085.
49. **Lojic, I.; Z. Bidijn; B. Pokric. 2003.** Differentiation of Infectious Bursal Disease Virus Isolated in Croatia. Rev. Avian Disease 47:59 – 65.
50. **Lovell, E. 2000.** Vacunas contra Gumboro. En. XVI Congreso Centroamericano y del Caribe de Avicultura. Panamá 2000. Rev. Industria Avícola 48(1): 50 – 52.
51. **Lucio, B. 2003.** Enfermedades Virales Inmunosupresoras. Conferencia presentada en el XVIII Congreso Latinoamericano de Avicultura, Santa Cruz, Bolivia en Octubre del 2003. Rev. Ciencia Veterinaria. 19 (4):7 – 8.

52. **Lukert, P.; V. Saif. 2003.** Infectious bursal disease. In: Diseases of poultry. 11th Edition. Saif. V.M (ed). Iowa State Press. USA. pp 161-179.
53. **Majo, N.; J. El-Attrache; A. Banda; P. Villegas; A. Ramis; A. Pages; N. Ikuta. 2002.** Molecular Characterization of Spanish Infectious Bursal Disease Virus Field Isolates. Rev. Avian disease 46:859 – 868.
54. **Mardassi, H.; N. Khabouchi; A. Ghram; A. Namouchi; A. Karboul. 2004.** A Very Virulent Genotype of Infectious Bursal Disease Virus Predominantly Associated with Recurrent Infectious Bursal Disease Outbreaks in Tunisian Vaccinated Flocks. Rev. Avian diseases 48:829–840.
55. **Meir, R.; D. Jackwood; Y. Weisman. 2001.** Molecular Typing of Infectious Bursal Disease Virus of Israeli Field and Vaccine Strains by the Reverse Transcription/Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism Assay. Rev. Avian disease 45: 223 – 228.
56. **Mohamed, K.; M. Al-Natour; L. Ward; Y. Saif. 1996.** Pathogenicity, attenuation, and immunogenicity of infectious bursal disease virus. Rev. Avian disease 40:567 – 571.
57. **Müller, H; K. Scholtissek; H. Becht. 1979.** The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double-stranded RNA. Rev. Journal Virology 31(3):584 – 589.
58. **Naqi, S.; B. Marquez; N. Sahin, 1983.** Maternal antibody and its effect on infectious bursal disease immunization. Rev. Avian disease 27(3):623 – 631.
59. **OIE. 2004.** Infectious bursal disease (Gumboro disease). In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Part 2. Section 2.7. Chapter 2.7.1. Disponible en http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00102.htm
60. **Paitin – Jackwood, M.; T. Brown. 2003.** Infectious Bursal Disease Virus and Proventriculitis in Broiler Chickens. Rev. Avian disease 47:681 – 690.

61. **Paitin – Jackwood, M.; T. Brown; Y. Kim; G. Huff. 2004.** Proventriculitis in Broiler Chickens: Effects of Immunosuppression. *Rev. Avian disease* 48:300 – 316.
62. **Perelman, B.; E. Heller. 1982.** The Effect of Infectious Bursal Disease Virus on the Immune System of Turkeys. *Rev. Avian disease* 27(1):66 – 76.
63. **Pereira, H. 1989.** Birnaviridae. *Viruses of Vertebrates*. En Pereira, S.; Travassos, C.; Huguenim, A.; Guimarães, A.; Silva, A. and Guimarães, M. 1998. Western blot detection of infectious bursal disease virus infection. *Rev. Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 31:671 – 674.
64. **Pérez, C. 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 F 52/70. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
65. **Perozo – Marín, F.; S. Rivera; G. Finol; Y. Mavárez. 2003.** Aflatoxina B1, Selenio y *Saccharomyces cerevisiae* en la respuesta inmune de pollos de engorde en el estado Zulia, Venezuela. *Rev. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIII, N° 5, 360 – 370.*
66. **Phong, S.; M. Hair-Bejo; A. Omar; I. Aini. 2003.** Sequence Analysis of Malaysian Infectious Bursal Disease Virus Isolate and the Use of Reverse Transcriptase Nested Polymerase Chain Reaction Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of VP2 Hypervariable Region. *Rev. Avian disease* 47:154 – 162.
67. **Pitcovski, J.; D. Di-Castro; Y. Shaaltiel; A. Azriel; B. Guttes; E. Yarkoni; A. Michael; B. Levi. 1996.** Insect Cell-derived VP2 of Infectious Bursal Disease Virus Confers Protection Against the Disease in Chickens. *Rev. Avian disease* 40:753 – 761.
68. **Pope, C. 1996.** Lymphoid System. En: *Avian Histopathology*. The American Association of Avian Pathology. 17 – 38.

69. **Rautenschlein, S.; H. Yeh; J. Sharma. 2003.** Comparative Immunopathogenesis of Mild, Intermediate, and Virulent Strains of Classic Infectious Bursal Disease Virus. *Avian diseases* 47:66 – 78.
70. **Revidatti, F.; R. Fernandez; J. Terraes; G. Sandoval; P. Esquivel de Luchi. 2001.** Modificaciones del peso corporal e indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo. *Rev. Vet.* 12/13:1 y 2.
71. **Reyes, O. 2000.** Efecto patógeno de las cepas vacunales 2512 y ST-12 del virus de la enfermedad de Gumboro sobre la Bursa de Fabricio en pollos de carne Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
72. **Robinette, A. 2002.** Autogenous EIB Vaccines: Techniques for isolating “New” EIB strains which are not protected by maternal immunity. En: XXVI Convención Anual de la Asociación Nacional de Ciencias Avícolas. Méjico. Mayo 2002.
73. **Rosales, A. 1994.** Control Actual de la Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de Fabricio. En: VIII Seminario Internacional de Patología Aviar. Athens, Georgia EUA. Junio 1994.
74. **Sellers, H.; P. Villegas; B. Seal; D. Jackwood. 1999.** Antigenic and Molecular Characterization of Three Infectious Bursal Disease Virus Field Isolates. *Rev. Avian disease* 43:198 – 206.
75. **Sellers, H.; P. Villegas; J. El-Attrache; D. Kapczynski; C. Brown. 2001.** Detection of infectious bursal disease virus in experimentally infected chickens by in situ hybridization. *Avian Disease* 45:26 – 33.
76. **Sivanandan, V.; S. Naheswara, 1980.** Immune Profile of Infectious Bursal Disease: I. Effect of Infectious Bursal Disease Virus on Peripheral Blood T and B Lymphocytes of Chickens. *Rev. Avian disease* 24(3):715 – 725.
77. **Sivanandan, V.; S. Naheswara. 1981.** Immune Profile of Infectious Bursal Disease: III. Effect of Infectious Bursal Disease Virus on the

Lymphocytes Responses to Phytomitogen and on Mixed Lymphocytes Reaction of Chickens. Rev. Avian disease 25(1):112 – 120.

78. **Tizard, I. 1998.** Inmunología veterinaria. 5ta edición. Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.A. México. D.F.
79. **Torrents, D.; J. Maldonado; N. Saubi; A. Pages – Mante. 2004.** Dogs as potential carriers of Infectious Bursal Disease Virus. Rev. Avian Pathology 33 (2):205-209.
80. **Villegas, P.; A. Banda. 2001.** Enfermedad Infecciosa de la Bolsa. XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura en Guatemala 2001. Rev. Industria Avícola. 49 (7):22 – 25.
81. **Whitfill, C.; A. Avakian; E. Haddad; M. Martin; J-K. Wijngaard; N. Chettle. 2002.** Virus-antibody complex vaccines: Present and future. En: XXVII Convención anual de la Asociación nacional de Ciencias Avícolas. Mejiro, 2002.
82. **Wu, H.; Singh N.; Locy R.; Scissum-Gunn, K. and Giambrone, J. 2004.** Immunization of Chickens with VP2 Protein of Infectious Bursal Disease Virus Expressed in *Arabidopsis thaliana*. Rev. Avian diseases 48: 663 – 668.
83. **Yamaguchi, T.; T. Kondo; Y. Inoshima; M. Ogawa; M. Niyoshi; T. Yanai; T. Masegi; H. Fukushi; K. Hirai. 1996.** In vitro attenuation of highly virulent infectious bursal disease virus: some characteristics of attenuated strains. Rev. Avian disease 40:501 – 509.
84. **Zavala, G. 1999.** Un Sistema Inmune sólido es esencial para la integridad del sistema respiratorio. Rev. Avicultura Profesional. 17(8):15-16.
85. **Zorman – Rojs, O.; D. Barlic – Maganja; D. Mitevski; W. Lübke; E. Mundt. 2003.** Very Virulent Infectious Bursal Disease Virus in Southeastern Europe. Rev. Avian Disease 47:186 – 192.

VIII. APÉNDICES

Página

Apéndice 1. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio a los 35 días de edad (Antes del desafío)..... 72

Apéndice 2. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio a los 35 días de edad (Antes del desafío)..... 73

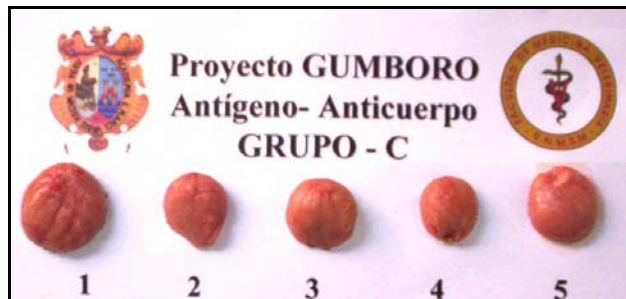
Apéndice 3. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio de aves al 4to día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad..... 74

Apéndice 4. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio de aves al 7mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad..... 75

Apéndice 5. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio de aves al 10mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad..... 76

Apéndice 6. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio de aves al 4to día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	77
Apéndice 7. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio de aves al 7mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	78
Apéndice 8. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio de aves al 10mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad.....	79
Apéndice 9. Calificación de lesiones histopatológicas en Bursa de Fabricio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad	80
Apéndice 10. Lesiones microscópica de las Bursas de Fabricio de aves a los 35 días de edad	81
Apéndice 11. Descripción de las lesiones histopatológicas en Bursa pre y post desafío con la cepa F52/70 de la EIB	82
Apéndice 12. Lesiones microscópica de las Bursas de Fabricio de aves desafiadas con la cepa F52/70 de EIB	84

Apéndice 1. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio a los 35 días de edad (Antes del desafío)



Las Bursas de Fabricio de los cuatro grupos son macroscópicamente de apariencia normal. Nótese la ausencia de edema y hemorragias

Apéndice 2. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio a los 35 días de edad (Antes del desafío)



Las superficies internas de las Bursas de Fabricio de los cuatro grupos son de apariencia normal. Nótese la ausencia de edema y hemorragias

Apéndice 3. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio de aves al 4to día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



Bursas en su mayoría aparentemente normales. Nótese 2 Bursas con ligero edema (Flecha roja)



Bursas (6) con edema de ligero a moderado (Flecha roja)

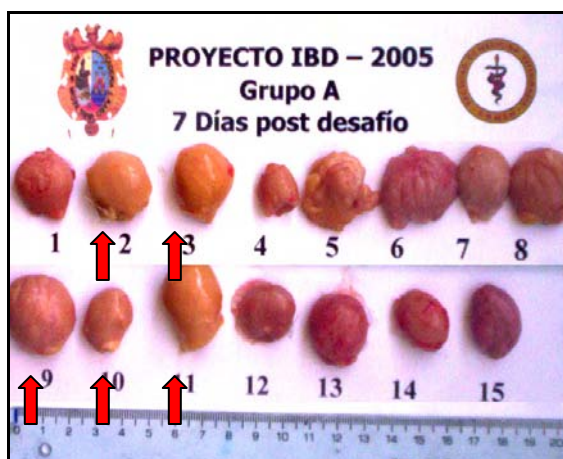


Bursas aparentemente normales. Nótese la ausencia de edema.

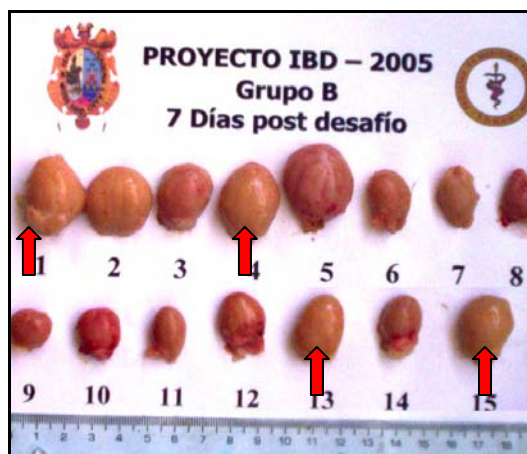


Bursas en su mayoría aparentemente normales. Nótese 3 Bursas con edema de ligero a moderado (Flecha roja)

Apéndice 4. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio de aves al 7mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



Algunas Bursas aparentemente normales. Nótese 5 Bursas con edema (Flecha roja)



Algunas Bursas aparentemente normales. Nótese 4 Bursas con edema (Flecha roja)



Algunas Bursas aparentemente normales. Nótese 9 Bursas con edema (Flecha roja)



Algunas Bursas aparentemente normales. Nótese 8 Bursas con edema (Flecha roja)

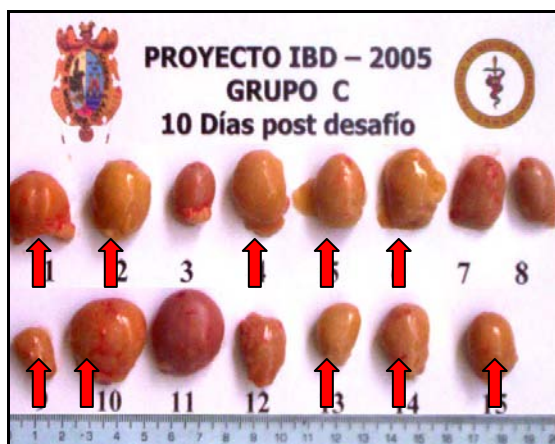
Apéndice 5. Observación macroscópica de la superficie externa de las Bursas de Fabricio de aves al 10mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



Algunas Bursas aparentemente normales, la mayoría reducidas de tamaño. Nótese 2 Bursas con edema (Flecha roja)



La mayoría de las Bursas reducidas de tamaño. Nótese solo una Bursas con edema (Flecha roja)



La mayoría de las Bursas se encuentran con edema, nótese 10 Bursas afectadas (Flecha roja)



La mayoría de las Bursas se encuentran con edema, nótese 13 Bursas afectadas (Flecha roja)

Apéndice 6. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio de aves al 4to día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



Bursas aparentemente normales. Nótese ausencia de edema y hemorragias



Bursas en su mayoría aparentemente normales. Nótese 4 Bursas con hemorragia (Flecha azul)



Bursas aparentemente normales. Nótese ausencia de edema y hemorragia



Algunas Bursas aparentemente normales. Nótese 2 Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 3 Bursas con edema (Flecha roja)

Apéndice 7. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio de aves al 7mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



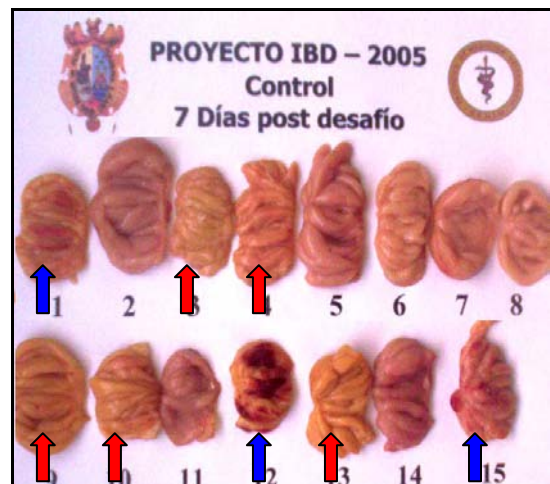
Nótese 2 Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 3 Bursas con edema (Flecha roja)



Nótese 6 Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 5 Bursas con edema (Flecha roja)



Nótese 4 Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 5 Bursas con edema (Flecha roja)



Nótese 3 Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 5 Bursas con edema (Flecha roja)

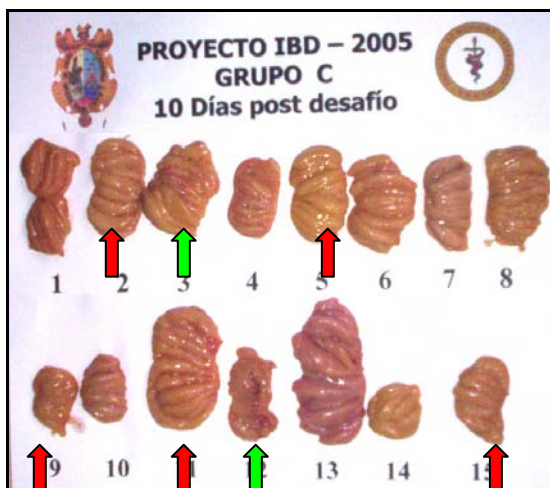
Apéndice 8. Observación macroscópica de la superficie interna de las Bursas de Fabricio de aves al 10mo día post desafío con la cepa F52/70 de la EIB a los 35 días de edad



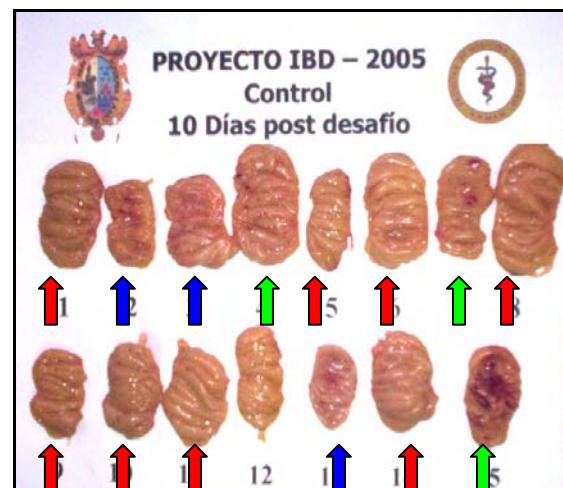
Nótese una Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 3 Bursas con hemorragia y material caseoso (Flecha verde)



Nótese 4 Bursas con hemorragia (Flecha azul) y 2 Bursas con edema (Flecha roja)

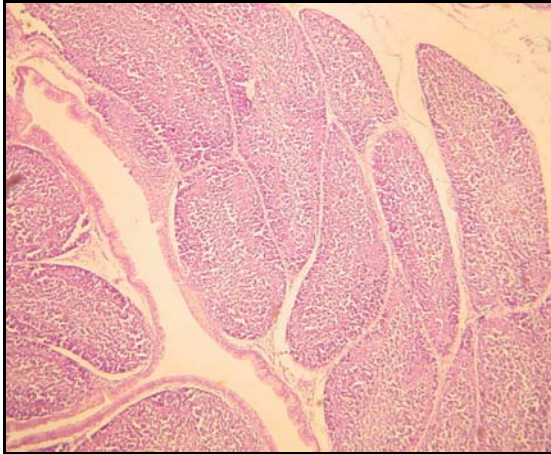


Nótese 2 Bursas con hemorragia y material caseoso (Flecha verde) y 5 Bursas con edema (Flecha roja)

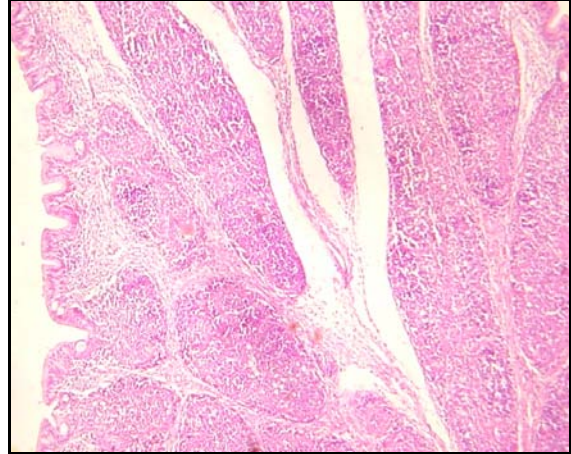


Nótese 3 Bursas con hemorragia (Flecha azul), 3 Bursas con hemorragia y material caseoso (Flecha verde) y 8 Bursas con edema (Flecha roja)

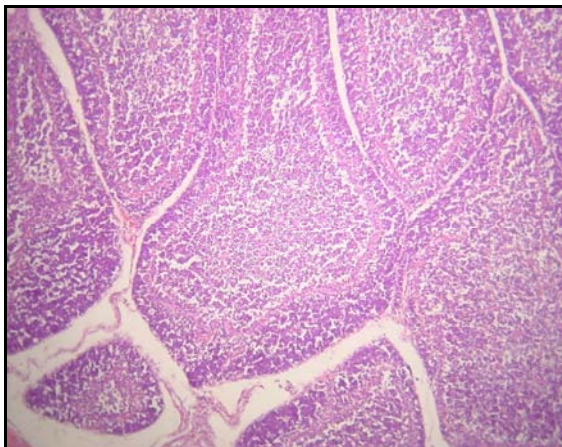
Apéndice 10. Lesiones microscópicas de las Bursas de Fabricio de aves a los 35 días de edad (Antes del desafío)



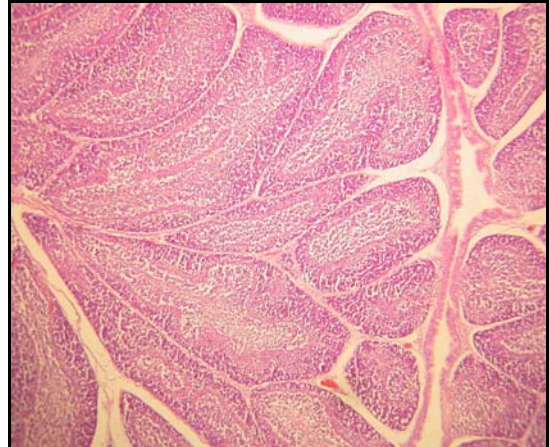
Grupo A (5X). Leve depleción linfoide, se diferencia la corteza de la medula del folículo. Nótese la ausencia de separación interfolicular.



Grupo B (5X). Leve depleción linfoide, se diferencia la corteza de la medula del folículo. Liger separación entre algunos de los folículos (Edema), hiperplasia del epitelio y leve infiltración de tejido conectivo en el espacio intrefolicular.



Grupo C (10X) Moderada depleción de linfocitos en la zona medular y cortical del folículo. Se diferencia la médula de la corteza del folículo. Leve separación entre los folículos (edema).



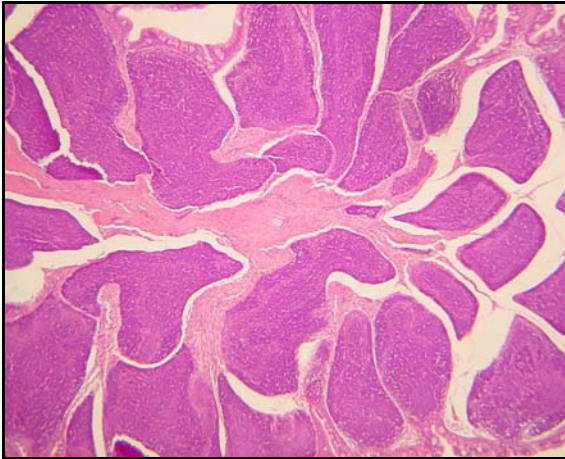
Grupo D (5X) Moderada depleción de linfocitos en la zona medular y cortical del folículo. Se diferencia la médula de la corteza del folículo. Liger separación entre los folículos (edema). Leve hiperplasia epitelial

**Apéndice 11. Descripción de las lesiones histopatológicas en Bursa
pre y post desafío con la cepa F52/70 de la EIB**

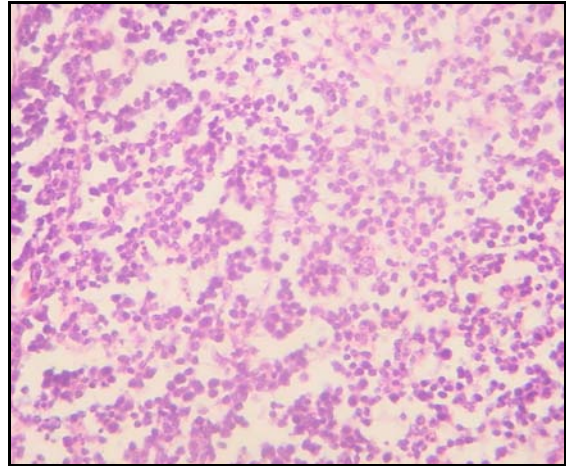
Días	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
35 (Antes del desafío)	Leve a moderada depleción linfoide con zonas de necrosis. Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas; algunas bursas con ligera separación entre los folículos linfoides indicativo de edema.	Moderada depleción linfoide con zonas de necrosis. Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas; algunas bursas con ligera separación entre los folículos linfoides indicativo de edema.	Moderada depleción linfoide con zonas de necrosis. Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas; algunas bursas con ligera separación entre los folículos linfoides indicativo de edema.	Moderada depleción linfoide con zonas de necrosis. Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas; algunas bursas con ligera separación entre los folículos linfoides indicativo de edema.
4 días post desafío	Moderada depleción linfoide medular y cortical con zonas de necrosis. Moderada separación entre folículos (edema) y alguna bursas con fibroplasia interfolicular. Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas.	Severa depleción linfoide, necrosis y formaciones quísticas en algunos de los folículos. Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas. Moderada a severa fibroplasia interfolicular, algunas de las bursas presentaron zonas de hemorragia.	Severa depleción linfoide con necrosis Moderada hiperplasia del epitelio de las plicas. Moderada a severa fibroplasia interfolicular.	Moderada depleción linfoide medular y cortical con zonas de necrosis. Algunas bursas con severa depleción y formaciones quísticas en algunos de los folículos, otras con fibroplasia interfolicular.

<p>7 días post desafío</p>	<p>Moderada depleción linfoide, moderada a severa fibroplasia interfolicular en algunas de las bursas.</p>	<p>Moderada a severa depleción linfoide; zonas de necrosis y formaciones quísticas en una de las bursas. Severa fibroplasia interfolicular.</p>	<p>Moderada a severa depleción linfoide; zonas de necrosis y formaciones quísticas. Severa fibroplasia interfolicular.</p>	<p>Severa depleción linfoide, zonas de necrosis y formaciones quísticas, algunas bursas con zonas de hemorragia. Severa fibroplasia interfolicular.</p>
<p>10 días post desafío</p>	<p>Moderada a severa depleción linfoide, zonas de necrosis, algunas bursas con formaciones quísticas y zonas de hemorragia. Severa fibroplasia interfolicular.</p>	<p>Severa depleción linfoide; zonas de necrosis y formaciones quísticas en una de las bursas. Severa fibroplasia interfolicular e hiperplasia del epitelio con zonas de invaginación.</p>	<p>Moderada a severa depleción linfoide; zonas de necrosis y formaciones quísticas. Severa fibroplasia interfolicular e hiperplasia del epitelio con zonas de invaginación. Folículos contraídos.</p>	<p>Severa depleción linfoide; zonas de necrosis y formaciones quísticas, con pérdida de folículo linfoide. Severa fibroplasia interfolicular e hiperplasia del epitelio con zonas de invaginación</p>

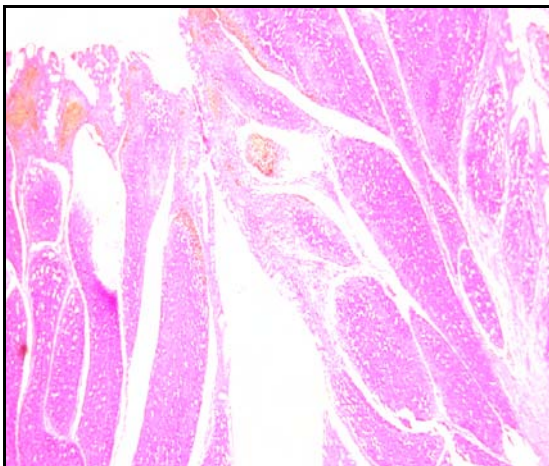
**Apéndice 12. Lesiones microscópicas de las Bursas de Fabricio de aves
desafiadas con la cepa F52/70 de la EIB**



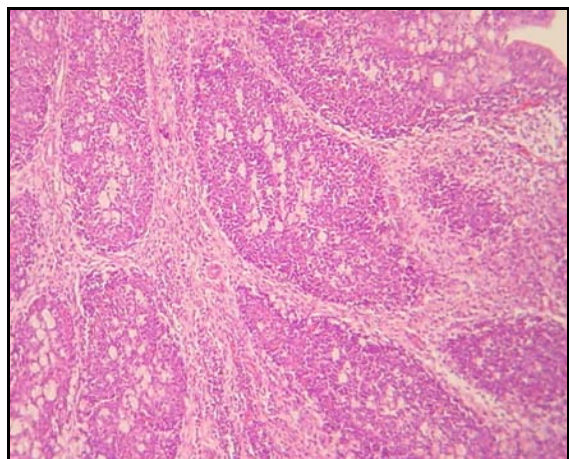
Grupo B (5X) 4to día post desafío.
Gran aumento de tejido conectivo
interfollicular (fibroplasia), nótese
también algunos folículos contraídos
v zonas de edema.



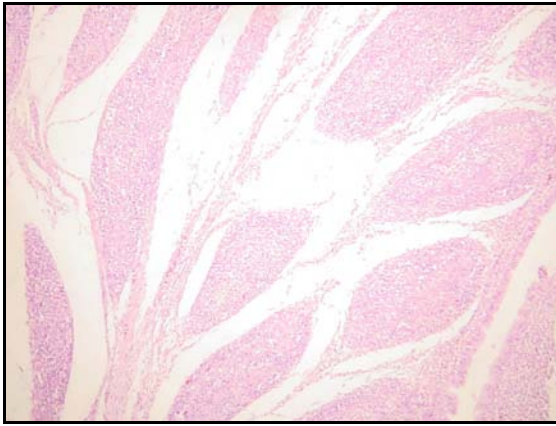
Grupo B (40X) 4to día post desafío.
Severa depleción linfoide, nótese la
significativa disminución de linfocitos



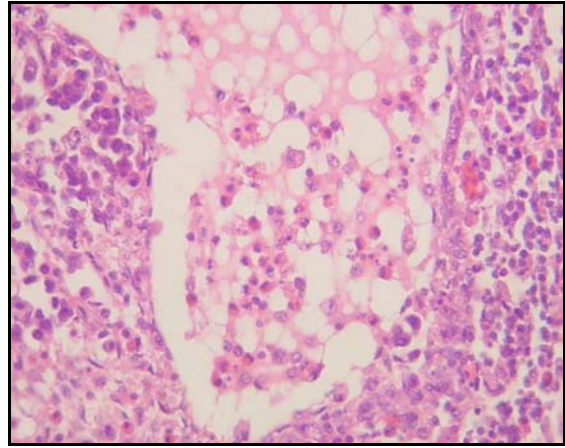
Grupo B (10X) 4to día post desafío.
Nótese las zonas de hemorragia y
folículos contraídos con depleción
linfoide.



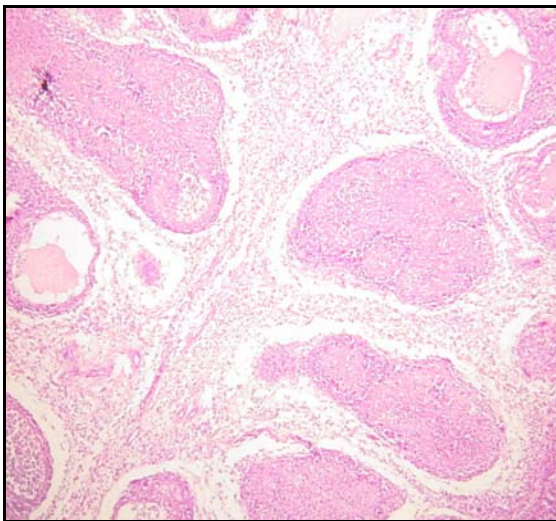
Grupo B (10X) 4to día post desafío.
Gran fibroplasia y severa depleción
linfoide, nótese la formación de
cavidades en los folículos y la pérdida
de algunos de ellos.



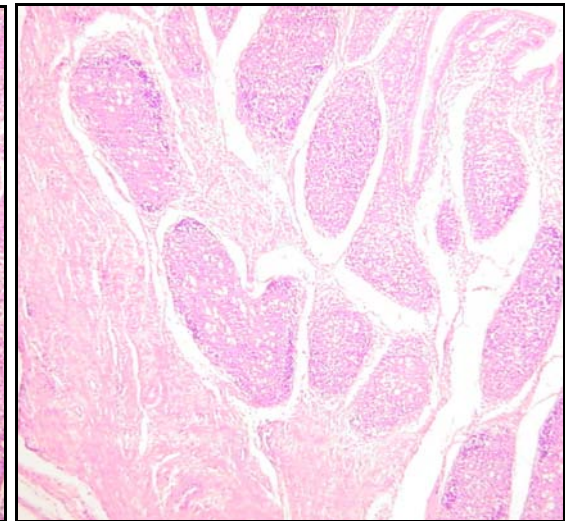
Grupo C (5X) 7mo día post desafío.
Severa depleción linfoide, proliferación de tejido interfolicular, nótese la contracción de los folículos linfoides



Grupo C (40X) 7mo día post desafío.
Severa depleción linfoide, nótese la gran pérdida de linfocitos y la formación de cavidad en la zona medular del folículo linfoide



Grupo D (5X) 7mo día post desafío.
Gran proliferación de tejido interfolicular (fibroplasia), severa depleción linfoide con formaciones quísticas con dentritus celular en su interior, pérdida de su estructura normal.



Grupo D (5X) 10mo día post desafío.
Gran proliferación de tejido interfolicular (fibroplasia), severa depleción linfoide nótese la contracción de los folículos linfoides y la pérdida de su estructura normal