

DETERMINACIÓN DEL CATABOLISMO DE LOS ANTICUERPOS MATERNOS Y SU INTERACCIÓN CON DIFERENTES PLANES VACUNALES PARA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO EN POLLOS DE ENGORDE

Castañeda R¹, Robin OJ², Morales HJ³

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad^(1, 3)
Nacional de Colombia – Carval de Colombia S. A.⁽²⁾

RESUMEN

Con el fin de evaluar el catabolismo de los anticuerpos maternos y su interferencia con tres planes vacunales diferentes contra la enfermedad de Gumboro se realizó un estudio utilizando pollos de la estirpe Ross 308, divididos en cuatro grupos: grupo 1: control (sin vacuna); grupo 2: vacunado los días 1, 7 y 15; grupo 3: vacunados los días 1 y 12; y grupo 4: vacunado el día 12. En el primer experimento el biológico se suministró en el agua de bebida, y en el segundo se hizo en el pico. Se sacrificaron 15 aves de cada grupo a los 1, 12, 21 y 42 días de edad y se evaluó peso corporal, tamaño y peso de la bolsa de Fabricio, relación peso bolsa/peso corporal (PB/PC), grado de depleción linfoide, presencia de cepas estándar y/o variantes del virus y los títulos de anticuerpos para la enfermedad de Gumboro.

El catabolismo de los anticuerpos maternos ocurrió entre los 21 y 28 días de edad. En los grupos vacunados no se evidenció una respuesta inmune activa frente a ningún plan vacunal. La relación PB/PC no indicó atrofia de la bolsa en el experimento 1, aunque las lesiones histopatológicas en el último muestreo fueron grado 3; en el segundo experimento solamente el grupo 3 presentó una disminución en la relación PB/PC; las lesiones histopatológicas en el tercer y cuarto muestreos, en todos los grupos, fueron clasificadas como grado 3 y 4. En los dos experimentos se detectó la presencia de cepas tanto clásicas como variantes y una baja respuesta humoral. Ninguno de los tres planes vacunales confirió adecuada protección a las aves.

Palabras clave: enfermedad de Gumboro, anticuerpos maternos, vacunación, anticuerpos monoclonales, pollo de engorde.

EVALUATION OF MATERNAL ANTIBODIES CATABOLISM AND ITS INTERACTION WITH VACCINATION PROGRAMS AGAINST INFECTIOUS BURSALE DISEASE IN BROILERS

ABSTRACT

In order to evaluate maternal antibody catabolism and its potential interference with three different vaccination programs against Gumboro disease, a study was performed using Ross 308 broiler chickens. They were allotted into four groups: Group 1: control (no vaccination);

¹ rcastanedasa@unal.edu.co

³ hjmoralesa@unal.edu.co

group 2: vaccinated on 1, 7, 15 days; group 3: on days 1 and 12; and group 4: on day 12. In experiment 1 the vaccine was given in the drinking water and in experiment 2 through in the beak. Fifteen chickens in each group were euthanized at 1, 12, 21 and 42 days of age. Body weight, size and weight of the bursa, ratio between weight of the bursa and body weight (WB/BW), degree of lymphoid depletion, presence of viral strains using a monoclonal antibody test and antibody titers were evaluated. Maternal antibody titers remained up to 21 and 28 days of age. In the vaccinated groups of both experiments, there was no evidence of any active immune response to the vaccination program. The WB/BW ratio did not showed bursal atrophy despite having grade 3 histological lesions. In experiment 2, only group 3 showed a decreased WB/BW ratio. In this experiment the histological lesions observed in the 3rd and 4th sampling were classified as grade 3 and 4. The monoclonal antibody test revealed the presence of classical and variant viral strains in both experiments.

The observed behavior of the size and weight of the Fabriciu's bursa, the ratio PB/PC, the maternal antibodies mean half life and antibody titer dynamics of the vaccinated subjects which were managed in isolation are in agreement with the reports by several authors. There was a low humoral response regardless the vaccination numbers in both experiments. None of the three vaccinations plans proposed in this research provided and adequate antibody protection in chickens.

Key words: Gumboro disease, maternal antibodies, vaccination, monoclonal antibodies, Broiler chickens.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Gumboro o Enfermedad infecciosa de la bolsa (IBD- Infectious Bursal Disease) es una entidad ocasionada por un Birnavirus del serotipo I, perteneciente a la familia Birnaviridae que inicialmente se replica en los linfocitos B de la bolsa de Fabricio (Hassan *et al.*, 1996). Ha sido considerada como una de las enfermedades virales de mayor amenaza en la industria avícola (Hassan *et al.*, 1996; Bolis *et al.*, 2003; Martínez-Torrecuadrada *et al.*, 2003). Debido a la inmunosupresión causada por el virus de la enfermedad de Gumboro (IBDV), la infección puede exacerbar otro tipo de infecciones ocasionadas por diferentes agentes etiológicos y, además, puede disminuir la habilidad de las aves para responder a diferentes programas vacunales (Müller *et al.*, 2003).

La inmunización mediante el uso de vacunas inactivadas o vivas modificadas ha sido una herramienta de gran valor para un control efectivo de la enfermedad y para dis-

minuir las pérdidas económicas ocasionadas por ella; de esta forma, la hiperinmunización de las reproductoras (mediante el uso de vacunas vivas e inactivadas) se ha convertido en una práctica de rutina, con el fin de transferir adecuados niveles de inmunidad pasiva a la progenie (Cardoso *et al.*, 2000).

La inmunidad pasiva es de suma importancia en la protección de los pollitos susceptibles durante las primeras semanas de vida. Sin embargo, debido a la mala uniformidad en los títulos de anticuerpos maternos (mAbs), se realizan programas de vacunación tempranos, con el fin de proteger a las aves con títulos bajos, para lo cual se usan las llamadas vacunas suaves o intermedias. La determinación del momento más adecuado para la vacunación de cada lote debe tener en cuenta la dinámica de caída de los niveles de protección conferidos por los anticuerpos maternos, lo cual se puede hacer mediante diferentes técnicas diagnósticas (Tsukamoto *et al.*, 1995).

El sistema Antígeno de captura-ELISA (AC-ELISA) ha sido usado para la detección del IBDV en tejidos infectados (Hassan *et al.*, 1996). Esta técnica utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítopes específicos del virus y es una herramienta valiosa para la detección de cepas variantes en campo (Ture *et al.*, 1993; Anónimo, 2004).

Teniendo en cuenta que la enfermedad de Gumboro es muy difícil de erradicar y la gran importancia de la implementación de un adecuado plan de vacunación, evitando la interferencia de los anticuerpos maternos con el desarrollo de la inmunidad activa, se realizó esta investigación con el fin de evaluar la posible interferencia de los anticuerpos maternos frente a tres esquemas vacunales en pollo de engorde y para determinar el catabolismo de anticuerpos maternos en aves no vacunadas; así mismo, se buscó identificar la presencia de cepas clásicas y/o variantes presentes en las aves experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 635 pollos de engorde de la estirpe Ross 308 de un día de edad, ya vacunados contra la enfermedad de Marek. Las aves fueron alojadas en un galpón con ambiente semi-controlado, en la Sabana de Bogotá, a una altura de 2.600 m sobre el nivel del mar.

El estudio fue dividido en dos experimentos, en los cuales el manejo, la toma y el procesamiento de las muestras se hicieron de la misma forma; los planes vacunales fueron los mismos pero la forma de administración de la vacuna fue diferente; en el experimento 1 se vacunó de forma masiva en el agua de bebida y en el experimento 2 individualmente en el pico.

Las aves se vacunaron únicamente contra la enfermedad de Gumboro, para lo cual se utilizaron vacunas vivas con cepas intermedias (S706[®] y Bursablen[®]). En el experimento 1 se utilizaron 295 pollos de un día de edad,

provenientes de un mismo lote de reproductoras y se dividieron al azar en cuatro grupos de la siguiente forma: grupo 1. 115 aves no vacunadas (grupo control); grupo 2. 70 aves vacunadas contra la enfermedad de Gumboro el primer día, por vía subcutánea, y el día 7 y 15 por vía oral en agua de bebida; grupo 3. 55 aves vacunadas contra la enfermedad de Gumboro el primer día, por vía subcutánea, y el día 12 por vía oral, en agua de bebida; y grupo 4. 55 aves que fueron vacunadas contra la enfermedad de Gumboro el día 12 vía oral en el agua de bebida.

En el segundo experimento se utilizaron 340 pollos de un día de edad, provenientes de un mismo lote de reproductoras, que se dividieron al azar en los mismos cuatro grupos. Los esquemas vacunales y las dosis suministradas a cada uno de estos grupos fueron iguales a los descritos para el primer experimento; las vías utilizadas fueron la subcutánea, en la dosis de primer día, y la oral para las demás dosis.

Muestreos

Para la obtención de las muestras en los dos experimentos se realizaron necropsias a 15 aves de cada grupo los días 1, 12, 21 y 42; se colectaron las muestras de sangre, se separaron los sueros por centrifugación a 2.500 rpm, en tubos eppendorf[®] y se almacenaron a -20 °C para su posterior procesamiento. Así mismo, se obtuvieron las bolsas de Fabricio para evaluación tanto histopatológica como de anticuerpos monoclonales, para lo cual se evaluó su tamaño con el bursómetro, se pesaron en una balanza analítica y se dividieron en mitades. La primera mitad de las bursas se colocó en formol bufferado al 10% y se procesó para su tinción con hematoxilina-eosina; la otra mitad se colectó en bolsas plásticas y se congeló a -56 °C, hasta su procesamiento mediante la prueba de ELISA para determinar la presencia de cepas clásicas y/o variantes en los tejidos.

Análisis serológico

El análisis de los sueros se realizó mediante la técnica de ELISA, para lo cual se utilizó un kit comercial para detectar la enfermedad de Gumboro (KPL ProFlock®); la prueba se realizó de acuerdo con las instrucciones de la casa productora del kit. Para el desarrollo de la prueba se hicieron diluciones de los sueros 1:50 en buffer de dilución y se incubaron en las placas que tienen el antígeno viral adherido en el fondo de cada pozo; los anticuerpos presentes en el suero forman un complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) con el antígeno que está adherido a la placa; con posterioridad, se lava y se agrega el conjugado que se va a unir al complejo Ag-Ac formado previamente; se lava de nuevo para remover el exceso de conjugado y se adiciona el sustrato, cuya reacción se evidencia por coloración; la intensidad del color está directamente relacionada con la cantidad de anticuerpos presentes en las muestras de suero. Por último, se agrega la solución de frenado de la reacción y se lee la placa a 405-410 nm.

Análisis histopatológico

Los cortes histológicos de la bolsa de Fabricio fueron evaluados para determinar el grado de depleción y/o necrosis del tejido linfoide. La clasificación se hizo de acuerdo a la escala propuesta por Sharma *et al.*, (1989): grado 0. menos del 5% de los folículos linfoides se encuentran afectados; grado 1. entre 5 y 25% de folículos afectados; grado 2. del 25 al 50% de folículos afectados; grado 3. del 50 al 75% de folículos afectados; y grado 4. más del 75% de folículos afectados.

Procesamiento para anticuerpos monoclonales

La determinación de la presencia de cepas virales en las bolsas de Fabricio se

realizó mediante la técnica de Antígeno de captura-ELISA, para lo cual se utilizó un kit comercial (Synbiotics®) que utiliza anticuerpos monoclonales (MAbs) dirigidos contra epítopes específicos del virus y que, además, contiene una placa de screening (#8) para determinar la presencia o ausencia del virus; las muestras positivas son adicionalmente monitoreadas en otras tres placas, en las que el fondo de los pozos de cada una de ellas está cubierto con los anticuerpos monoclonales B69, R63 o #10, respectivamente, para identificar epítopes específicos del virus. La lectura de las placas se realizó a 405-410 nm. Las muestras con densidades ópticas mayores o iguales a 0,6 sugieren la presencia del antígeno viral; las densidades ópticas mayores de 0,3 y menores de 0,6 se consideran sospechosas y las densidades ópticas menores o iguales a 0,3 indican ausencia del agente.

Análisis estadístico

Para analizar el comportamiento de las variables de peso corporal, peso de la bolsa, relación peso corporal/peso bolsa, tamaño de la bolsa y títulos de anticuerpos en pollos sometidos a los cuatro diferentes tratamientos (grupos) se analizó el efecto de cada uno de ellos y el efecto de la edad de muestreo y de sus posibles interacciones sobre cada parámetro; se realizó un Análisis de Varianza (ANAVA) para un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial 4x4, con un nivel de significancia del 5%; los datos fueron procesados en el sistema estadístico SAS (Statistical Analysis System, 2004).

Para las lesiones histopatológicas se trabajó estadística descriptiva, mediante la distribución de las lesiones por porcentajes de acuerdo con el grupo y la edad de muestreo.

RESULTADOS

Peso corporal

En general, en los dos experimentos se observaron ganancias de peso progresivas a lo largo de todo el estudio. El grupo 2 (en el experimento 1) y el 4 (en el experimento 2) mostraron mayores aumentos de peso (tablas 1 y 2); se presentaron diferencias significativas ($P < 0,0001$) asociadas a la edad en cada grupo, lo que indica que este factor influye directamente sobre el comportamiento de la variable. En los dos experimentos los promedios de peso al finalizar el ciclo estuvieron por debajo de los parámetros establecidos para la estirpe utilizada.

Hallazgos en la necropsia

Las principales lesiones halladas en las aves de los cuatro grupos en los dos experimentos fueron: contenido de moco en

tráquea, leve a moderado; cambios de coloración en pulmón; sacos aéreos torácicos y abdominales con contenido espumoso; hemorragias petequiales en timo, músculos de la pechuga, de las piernas y en la grasa de los muslos; retención de sacos vitelinos; leve congestión en encéfalo y hemorragias en las folias de la bursa a partir del día 21 (figuras 1 y 2).

Figura 1. Hemorragias petequiales en músculos de la pechuga

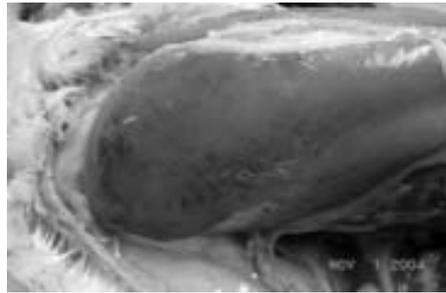


Tabla 1. Valores semanales promedio para el peso corporal (g) en cada uno de los grupos en el experimento 1.

Semana	1	2	3	4	5	6
Grupo 1	144,1	298,4	531	976	1.520,6	2.072,8
Grupo 2	148,1	286,2	572,6	1.052	1.527	2.079,3
Grupo 3	148,8	298,8	602,5	1.096	1.508	2.012
Grupo 4	144,4	295,5	564,4	1.040	1.511,7	2.015

Tabla 2. Valores semanales promedio para el peso corporal (g) en cada uno de los grupos en el experimento 2.

Semana	1	2	3	4	5	6
Grupo 1	119,63	265,6	557,6	978,6	1497	2.100,3
Grupo 2	119	269,4	569,3	1.056	1.556,6	2.099
Grupo 3	120,6	274,9	531	1.083	1.563,3	2.070,3
Grupo 4	124,3	275,6	548	1.043	1.588,3	2.133,3

Figura 2. Hemorragias petequiales en Bursa



Tamaño y peso de las bolsas de Fabricio

En general, en los dos experimentos hubo un aumento progresivo en el tamaño de las bolsas de Fabricio en todas las aves a lo largo del estudio, con tamaños promedio

de 1,67 al principio del experimento y de 6,53 al final (figuras 3 y 4). Para la variable peso de la bolsa, en el primer experimento, se observó que para la edad 1 el peso promedio de la bursa en todos los grupos fue igual; en la segunda edad, en todos los grupos, hubo incremento de este parámetro; sin embargo, el 1 y 2 alcanzaron pesos mayores que el 3 y 4; en la tercera edad se presentó un mayor aumento de peso de la bolsa en las aves del grupo 3, mientras que al final del ciclo el peso del órgano se comportó de forma similar en los cuatro grupos; como se puede observar en la tabla 3, se observaron diferencias significativas por edad ($P < 0,05$), indicando que el peso del órgano fue diferente en cada muestreo.

Figura 3. Tamaño promedio de las Bolsas de Fabricio por grupo en las diferentes edades en el experimento 1

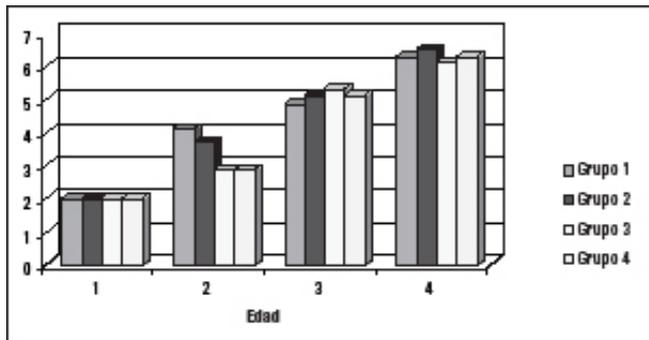


Figura 4. Tamaño promedio de las Bolsas de Fabricio por grupo en las diferentes edades en el experimento 2

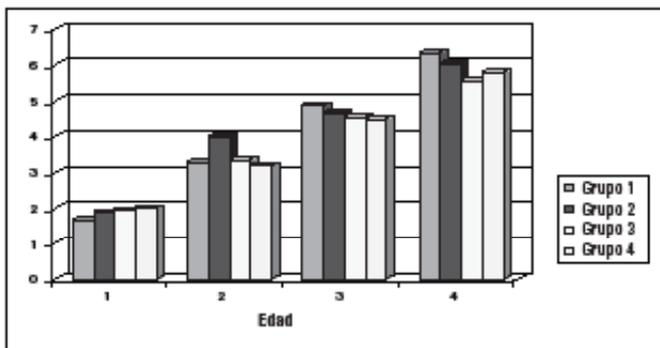


Tabla 3. Peso promedio (g) y desviación estándar (D.E.) de la bolsa de Fabricio para cada edad en el experimento No. 1.

	EDAD							
	1	D.E.	2	D.E.	3	D.E.	4	D.E.
Grupo 1	0,1	0	0,749	0,204	1,59	0,328	5,11	0,761
Grupo 2	0,1	0	0,813	0,292	1,65	0,351	5,01	1,387
Grupo 3	0,1	0	0,549	0,133	2,01	0,403	4,88	1,749
Grupo 4	0,1	0	0,522	0,102	1,68	0,295	4,86	1,567

En el experimento 2, en la primera edad se observaron pesos promedio de la bolsa de Fabricio similares en todos los grupos; en la segunda edad, el grupo 2 mostró un mayor aumento en este parámetro; en la tercera edad, los aumentos de peso fueron similares

en todos los grupos. Al final del experimento se observaron diferencias significativas ($P < 0,0001$) en la interacción grupo*edad, encontrándose que los grupos 1, 2 y 4 alcanzaron pesos de la bolsa similares, aunque mayores al observado para el grupo 3 (tabla 4).

Tabla 4. Peso promedio (g) y desviación estándar (D.E.) de la bolsa de Fabricio para cada una de las edades en el experimento No 2.

	EDAD							
	1	D.E.	2	D.E.	3	D.E.	4	D.E.
Grupo 1	0,059	0,019	0,696	0,119	1,94	0,526	5,359	1,407
Grupo 2	0,065	0,016	0,888	0,234	1,718	0,383	4,729	2,169
Grupo 3	0,064	0,018	0,518	0,117	1,624	0,355	3,942	0,963
Grupo 4	0,064	0,016	0,529	0,126	1,744	0,454	5,203	1,686

Relación peso bolsa de Fabricio-peso corporal (PB/PC)

En el experimento 1, todos los grupos presentaron un aumento en los valores promedio de la relación PB/PC en las tres primeras edades, con un descenso posterior al final del ciclo (figura 5). En el segundo experimento, el comportamiento fue similar al descrito en el primero; sin embargo, en la segunda edad

se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los grupos 1, 3 y 4, cuyos valores promedio fueron menores a los encontrados en el grupo 2 (figura 6); al igual que en el primer experimento, en la última edad se presentó una caída muy notoria en la relación PB/PC en todos los grupos, siendo más drástica y significativa en el grupo 3 ($P < 0,05$).

Figura 5. Valores promedio de la relación Peso bolsa de Fabricio/Peso corporal por grupo en las diferentes edades en el experimento 1. E = Edad

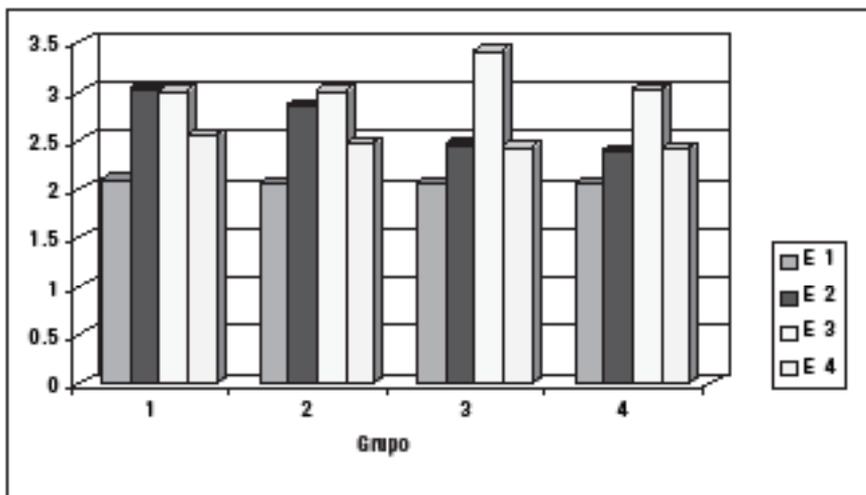
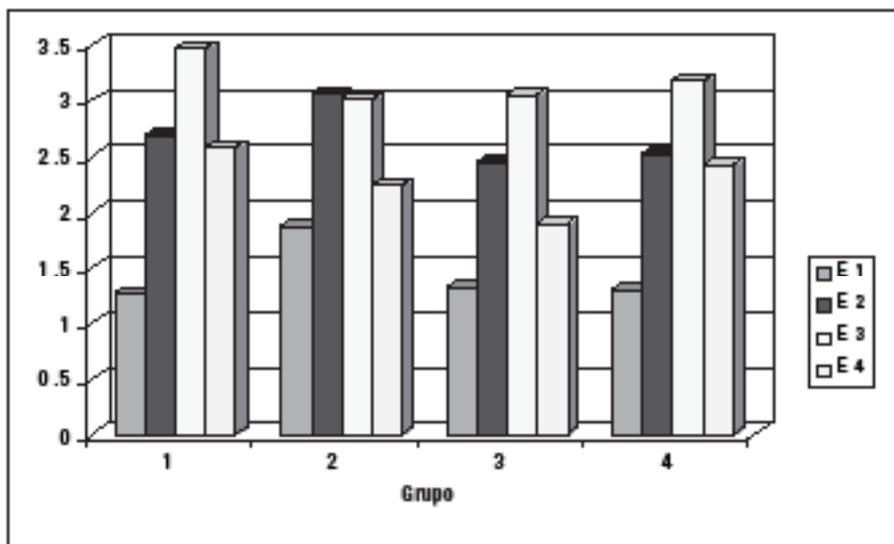


Figura 6. Valores promedio de la relación Peso bolsa de Fabricio/Peso corporal por grupo en las diferentes edades en el experimento 1. E = Edad

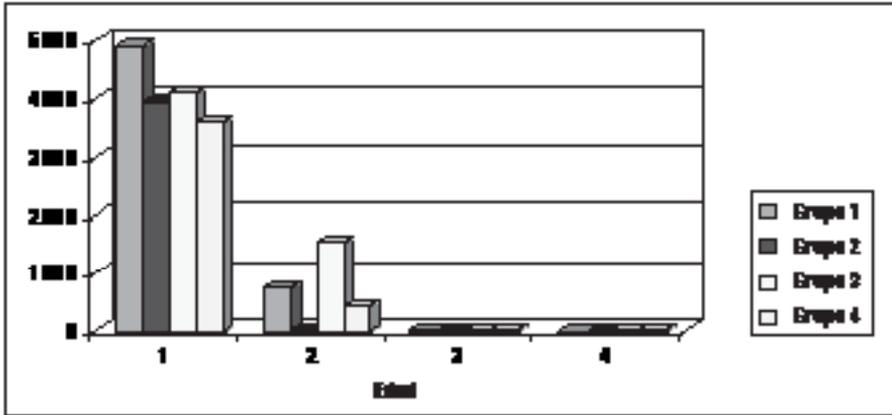


Serologías

En el primer experimento, los promedios geométricos (GMT) de los títulos de anticuerpos fueron más altos en las aves del grupo 1 durante la primera edad; en la segunda,

se observó una caída drástica del GMT en el segundo grupo, encontrándose diferencias significativas ($P < 0,05$) con los demás grupos. Para el día 21, los niveles de anticuerpos maternos disminuyeron prácticamente a

Figura 7. Promedios Geometricos por grupo en las diferentes edades en el experimento 1



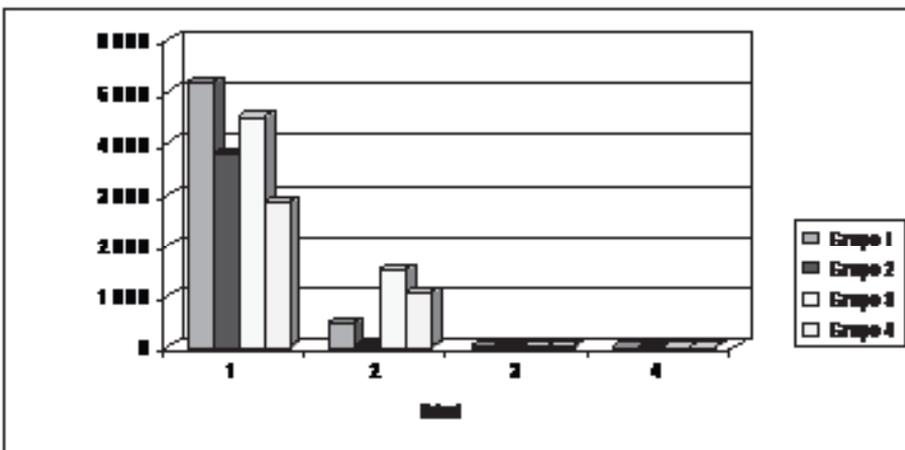
cero en todos los grupos, comportamiento que se mantuvo hasta el final del ciclo (figura 7). Al igual que en el primer experimento, el GMT máximo durante la primera edad fue el correspondiente al grupo control; de igual forma, el ANAVA determinó la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la segunda edad entre los grupos 1, 3 y 4, que evidencian una mayor persistencia de títulos de anticuerpos, y el grupo 2, que presenta una disminución drástica en los mismos; en la tercera edad continuó la disminución en los promedios geométricos en

todos los grupos, hasta encontrar valores de cero en la última edad en los cuatro grupos (figura 8).

Histopatología

En el análisis microscópico de las bolsas de Fabricio en los dos experimentos no se observaron lesiones histopatológicas en las aves de 1 y 7 días. En el experimento 1, los porcentajes de lesiones histopatológicas fueron aumentando a partir de la segunda edad, momento en el que se encontró que el máximo grado de lesión era observable en el

Figura 8. Promedios Geometricos por grupo en las diferentes edades en el experimento 2



grupo 2, el cual mostraba depleción linfoide que alcanzó grado 3 en un 6,67%, mientras que en los otros grupos se encontraron lesiones grado 0 (es decir, cambios muy leves en las bolsas de Fabricio) en un 20% de las aves del grupo 3 y en un 33% de las aves del grupo 4, y grado 1 en un 20% de las aves del grupo 1. Al final del experimento, las lesiones en los grupos 2 y 4 fueron grado 2 y en los grupos control y 3 fueron grado 3, como se puede observar en la figura 9 a y b. En el segundo experimento, el comportamiento de las lesiones histopatológicas fue un poco diferente. En la segunda edad, los grupos 1 y 2 presentaron lesiones grado 1 y en los grupos 3 y 4 fueron grado 0; en la tercera edad, las lesiones encontradas en los grupos 1, 2 y 4 fueron grado 2 y en el grupo 3 fueron grado 1; en la última edad, el grupo control y los grupos 3 y 4 evidenciaron lesiones grado 2 y 3, mientras que el grupo 2 alcanzó grado 4 en las lesiones.

Anticuerpos monoclonales

En los dos experimentos la técnica de anticuerpos monoclonales indicó la presencia de cepas tanto clásicas como variantes (tipo RS593) en el tercer y cuarto muestreos en los diferentes grupos; cabe anotar que algunas cepas del virus no pudieron ser clasificadas mediante el uso de este panel de anticuerpos monoclonales, ya que los patro-

nes de reactividad de las muestras con los anticuerpos monoclonales no coincidieron con ninguna de las clasificaciones establecidas por la prueba, por lo cual se clasificarán posteriormente mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa-PCR.

DISCUSIÓN

Los promedios de peso corporal semanales en los dos experimentos se encontraron por debajo de lo reportado para esta estirpe (manual Ross 308, 2000), a pesar de que las aves de un día se recibieron con buenos pesos promedio. Esto pudo ser ocasionado por la restricción alimenticia a la que fueron sometidas las aves durante el estudio, buscando minimizar la presentación del síndrome ascítico aviar que es muy común en aves bajo altas presiones de crecimiento (Julian, 2000).

Las hemorragias petequiales observadas en las bolsas de Fabricio, así como la presencia de lesiones hemorrágicas en los músculos pectorales y de las piernas pudieron ser inducidas por el tipo de vacunas usadas y por la presencia de cepas variantes del virus en los galpones de semi-aislamiento, como se comprobó en la prueba de anticuerpos monoclonales, ya que, como lo reportan Mazariegos *et al.*, (1990) y Toscano *et al.*, (1996), las vacunas intermedias varían en cuanto a su antigenicidad y patogenicidad

Figura 9. Diferentes grados de depleción linfoide en la bolsa de fabricio

A. Depleción Grado 2. B: depleción grado 3



y, por tanto, algunas de ellas tienen la capacidad de ocasionar lesiones semejantes a las producidas por las cepas del virus de campo.

A lo largo del estudio en el grupo control (en los dos experimentos) se observaron aumentos progresivos tanto en el tamaño como en el peso de las bolsas, como lo reportan Bolis *et al.*, (2003), quienes indican que en aves no vacunadas el aumento en el tamaño y el peso del órgano muestra un rápido ascenso durante las primeras ocho semanas de vida en machos y hasta las 12 semanas en hembras, para luego presentarse una rápida regresión del órgano. De forma similar, las aves que recibieron varias dosis de vacunas tuvieron un aumento gradual en estos dos parámetros, con leves variaciones entre los grupos para los diferentes muestreos; en el experimento 2 el incremento en las dos variables fue más notorio durante el segundo muestreo en el grupo 2 (tres vacunas), en el que se observó un aumento promedio mayor en el tamaño y peso de la bolsa al compararlo con los demás grupos; esto pudo ocurrir por que estas aves tenían una vacuna más al momento del muestreo, evento que pudo ocasionar un leve edema en la bolsa que hizo más evidentes los incrementos en las variables. Resultados semejantes han sido reportados por Toscano *et al.*, (1996), quienes encontraron leves diferencias en los tamaños de la bolsa en aves inoculadas con tres tipos diferentes de vacunas intermedias.

En cuanto a la relación PB/PC se encontró que para el grupo control, así como para los demás grupos, se produjo una disminución en la relación a partir de los 21 días, lo que podría deberse a la presencia de cepas variantes en las unidades de semi-aislamiento que estuvieran lesionando de forma leve las bolsas de Fabricio, provocando cierto grado de depleción, así como a los diferentes grados de patogenicidad de las cepas utilizadas para la vacunación de las aves (Sharma *et*

al., 1989; Mazariegos *et al.*, 1990; Toscano *et al.*, 1996; Al-Natour *et al.*, 2004). El comportamiento observado en el grupo control es similar a los reportes de Sharma *et al.*, (1989) y Ashraf *et al.*, (2005), quienes también encontraron una disminución marcada en esta relación hacia el día 21, aun en aves no vacunadas; sin embargo, difiere de lo reportado por Bolis (2003), quien halló que en el grupo control la relación estuvo siempre en ascenso.

La disminución en la relación PB/PC observada en este estudio a partir del día 21 en los grupos vacunados ha sido descrita en otros trabajos que reportan que en aves vacunadas con cepas clásicas y/o variantes se produce una caída bastante drástica en la relación (Sharma *et al.*, 1989; Mazariegos *et al.*, 1990; Tsukamoto *et al.*, 1995; Ignjatovick, 2000).

En el experimento 1 no se observaron relaciones PB/PC por debajo de 2.0, lo cual indica que ni las cepas vacunales ni la variante ocasionaron lesiones tan graves como para producir atrofia de la bolsa de Fabricio; en el experimento 2, la caída brusca en la relación observada en el grupo 3 para el cuarto muestreo podría obedecer al bajo peso obtenido para la bolsa de Fabricio en este muestreo, situación que pudo ser el resultado de la conjunción de lesiones ocasionadas tanto por la cepa clásica como por la variante presentes en el galpón.

Los diferentes grados de lesiones histopatológicas observadas en las aves de los cuatro grupos a partir del segundo muestreo pudieron ser ocasionadas por la cepa variante aislada de estas aves, así como por las cepas vacunales, lo que ha sido reportado por varios autores (Hassan *et al.*, 1996; Scanavini *et al.*, 2004). Adicionalmente, es conocido que el uso de vacunas vivas en los pollos induce lesiones de moderadas a severas en la bolsa de Fabricio que pueden causar diferentes grados de depleción linfoides, dismi-

nuyendo la respuesta de las aves a diferentes planes vacunales para otras enfermedades (Mazariegos *et al.*, 1990; Toscano *et al.*, 1996; Ignjatovic, 2000; Ito *et al.*, 2001).

Los títulos de mAbs en pollitos de un día en los dos experimentos evaluados mediante la técnica de ELISA mostraron, en general, niveles altos, como lo indican los promedios geométricos, aunque en algunas aves se observaron títulos bajos, hallazgo que señala que la protección conferida a la progenie no fue uniforme. Esto ha sido descrito por varios autores, quienes indican que aun en reproductoras con adecuados niveles de anticuerpos circulantes es posible que un pequeño porcentaje de su progenie nazca sin anticuerpos o con niveles muy bajos de ellos (Van den Berg y Meulemans, 1991; Alam *et al.*, 2002).

Se determinó que la persistencia de los mAbs en las aves de todos los grupos estuvo entre los 21 y 28 días de edad, similar a lo encontrado por diferentes autores (Van Denn Berg y Meulemans, 1991; Ignjatovic, 2000; Alam *et al.*, 2002; Ahmed y Akhter, 2003).

En la segunda edad se observó una marcada disminución en los promedios geométricos para los grupos de aves vacunadas y en los dos últimos muestreos los valores estuvieron entre 0 y 58; este comportamiento pudo ser debido a una baja inmunogenicidad de las vacunas o una neutralización de los virus vacunales por parte de los anticuerpos maternos, ya que esto se ha visto sucede con vacunas suaves e intermedias (Mazariegos *et al.*, 1990; Van Den Berg y Meulemans, 1991; Toscano *et al.*, 1996; Van Den Berg, 2000; Alam *et al.*, 2002; Ahmed y Akhter, 2003; Müller *et al.*, 2003; Scanavini *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

Se determinó que el tiempo de catabolismo de los anticuerpos maternos en pollo de engorde Ross es de 21 a 28 días.

Se detectó que la inmunidad pasiva transferida por las reproductoras a la progenie no es uniforme. Adicionalmente, los resultados de este estudio sustentan que los títulos de mAbs podrían estar implicados en la inadecuada respuesta a la vacunación. El método de vacunación pareció influir en el grado de lesión ocasionado en la bolsa por las cepas vacunales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed Z and Akhter S. Role of maternal antibodies in protection against infectious bursal disease in commercial broilers. *International Journal of Poultry science* 2: 251-255, 2003.
2. Alam J, Rahman MM, Sil BK, Khan MSR, Giassudin and Sarker MSK. Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (Gumboro) with live vaccine in broiler. *International Journal of Poultry science* 1: 98-101, 2002.
3. Al-Natour MQ, Ward LA, Saif YM, Stewart-Brown B and Keck LD. Effect of different levels of maternally derived antibodies on protection against infectious bursal disease virus. *Avian diseases* 48: 177-182, 2004.
4. Anónimo. Antigen Capture ELISA for the detection and differentiation of infectious bursal disease virus. [www. Synbiotics.com](http://www.Synbiotics.com). 2004.
5. Anónimo. Manual de manejo de pollo de engorde. Ross Breeders. Scotland, UK. 121p, 2000.
6. Ashraf S, Abdel-Alim G, Al-Natour MQ and Saif YM. Interference between mild and pathogenic strains of infectious bursal disease virus in chickens. *Avian diseases* 49: 99-103, 2005.
7. Bolis DA, Paganini FJ, Simon VA, Zuanaze MF, Scanavini NH, Correa A and Ito NMK. Gumboro disease: Evaluation of serological and anatomopathological responses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 5: 1-15, 2003.

8. Cardoso TC, Rahal P, Pilz D, Teixeira MCB and Arns CW. Replication of classical infectious bursal disease virus in the chicken embryo related cell line. *Avian pathology* 29: 213-217, 2000.
9. Hassan MK, Al-Natour MQ, Ward LA and Saif YM. Pathogenicity, attenuation, and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian diseases* 40: 567-571, 1996.
10. Ignjatovic J. Infectious bursal disease virus (IBDV): to determine if current vaccination strategies prevent the emergence of variant IBDV strains in Australia. Rural Industries Research and Development Corporation 1-25, 2000.
11. Ito NMK, Miyahi CI, Lima EA and Okabayashi S. Doença de Gumboro: Revisao de literatura Avacos em biotecnologia e novos conhecimentos. Monografia, Elanco, Brasil, 76 p., 2001.
12. Julian R. Physiological, management and environmental triggers of the ascites syndrome: a review. *Avian Pathology* 29: 519-527, 2000.
13. Martínez-Torrecaudrada JL, Saubi N, Pagès-Manté A, Castón JR, Espuña E and Casal JL. Structure dependent efficacy of infectious bursal disease virus (IBDV) recombinant vaccines. *Vaccine* 21: 3342-3350, 2003.
14. Mazariegos LA, Lukert PD and Brown J. Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease virus "intermediate" strains. *Avian Diseases* 34: 203-208, 1990.
15. Müller H, Islam MdR, Raue R. Research on infectious bursal disease- the past, the present and the future. *Veterinary Microbiology* 97: 153-165, 2003.
16. SAS Institute Inc. SAS User's guide: Statistics, SAS Institute, Cary, NC, 2004.
17. Scanavini N, Ito NMK, Miyaji CI, Lima E, Okabayashi S, Correa A, Eleuterio GC and Zuanaze MA. Infectious bursal disease virus: case report and experimental studies in vaccinated and unvaccinated SPF chickens and commercial broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science* 6: 41-54, 2004.
18. Sharma JM, Dohms JE, Metz AL. Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific-pathogen-free chickens. *Avian Diseases* 33: 112-124, 1989.
19. Toscano CA, Chapa BJ and Lucio DE. Evaluation of bursal damage, regeneration, and protection by the administration of infectious bursal disease live virus vaccines. *Memorias XXI Convención anual de especialistas en ciencias avícolas. ANECA. Cancún, México, pp. 183-186, 1996.*
20. Ture O, Tsai HJ and Saif YM. Studies on antigenic relatedness of classic and variant strains of infectious bursal disease viruses. *Avian Diseases* 37: 647-654, 1993.
21. Tsukamoto K, Tanimura N, Kakita S, Ota K, Mase M, Imai K and Hihara H. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. *Avian Diseases* 39: 218-229, 1995.
22. Van den Berg T. Acute infectious bursal disease in poultry: A review. *Avian Pathology* 29:175-194, 2000.
23. Van Den Berg TP and Meulemans G. Acute infectious bursal disease in poultry: Protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. *Avian Pathology* 20: 409-421, 1991.