



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**DETERMINACION DE LA VIRULENCIA DE 4
AISLAMIENTOS DEL VIRUS DE LA INFECCION DE
LA BOLSA DE FABRICIO**

**TRABAJO FINAL ESCRITO DEL
IV SEMINARIO DE TITULACION
EN EL AREA DE AVES**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JERONIMO CHOREÑO TELLEZ

Asesores:

MVZ MC Juan Carlos Valladares de la Cruz

MVZ Miguel Angel Cenicerros Ruiz

México, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Hipótesis y Objetivo.....	12
Material y Método.....	13
Resultados.....	16
Discusión.....	19
Literatura Citada.....	23
Figuras y Cuadro.....	26

RESUMEN

JERONIMO CHOREÑO TELLEZ. Determinación de la virulencia de cuatro aislamientos del virus de la Infección de la bolsa de Fabricio (bajo la asesoría de Juan Carlos Valladares de la Cruz y Miguel Angel Cenicerros Ruiz).

Se determinó el grado de virulencia de 4 aislamientos del virus IBF del laboratorio de Virología del Departamento de Producción Animal: Aves, FMVZ UNAM, mediante estudios morfométricos, histológicos y serológicos. Los resultados obtenidos indican que uno de los aislamientos utilizado (el aislamiento 1) es patógeno de intensidad moderada, no produce signos clínicos, pero produce disminución en el tamaño bursal, lesiones microscópicas subagudas (intermedias) difusas moderadas después de 5 días de inoculación, que persisten por 17 días. El aislamiento 1 logró estimular la producción de anticuerpos detectables por VSN al 5o día, cuyo título permaneció homogéneo y elevado a los 17 días. Los otros tres aislamientos evaluados (2, 3 y 4) no generaron cambios en los parámetros estudiados después de cinco días de inoculación. Aparentemente el aislamiento 1 se difundió en forma horizontal progresivamente hacia los animales de los lotes que recibieron los otros aislamientos de desafío, dichos animales presentaron lesiones agudas severas 5 días después de la inoculación presumiblemente atribuibles al virus del aislamiento 1.

INTRODUCCION

La Infección de la Bolsa de Fabricio es una enfermedad viral que afecta las aves domésticas de todo el mundo. Clínicamente afecta a los pollos jóvenes por lo general desde las 6 semanas de edad (5).

La enfermedad fue reconocida por primera vez por Crossgrove en 1962 en área de Gumboro, Delaware,, EUA (2,3).

La Infección de la Bolsa de Fabricio (IBF) en México fue identificada por primera vez en 1964 por Correa. A partir de 1972 se determina su presencia en diferentes partes de la República Mexicana (1,4,9).

El agente etiológico es un virus desnudo de forma icosaédrica con un diámetro de 55-60 nm, pertenece a la familia Birnaviridae por ser un virus con doble cadena de RNA y doble segmentación (3).

Existen 2 serotipos: el Serotipo 1 que es patógeno y se ha aislado de pollos y patos, y el Serotipo 2 que aparentemente es apatógeno se ha aislado de pollos y pavos. Dentro de cada Serotipo existe variabilidad antigénica (3,10). La enfermedad es infecciosa y muy contagiosa, los pollos afectados excretan el virus en las heces hasta por 2 semanas después de la infección (8).

La transmisión se lleva a cabo en forma horizontal a través de las heces, equipo e instalaciones infectadas, así como las personas con falta de higiene ó por medio de otro vector mecánico (10,13).

La forma aguda de la enfermedad se caracteriza por una aparición rápida y es de duración corta. El virus afecta el tejido linfóide causando destrucción de los linfocitos derivados de la Bolsa de Fabricio, timo, bazo y tonsilas cecales (5,9,17).

Después de la infección de parvadas susceptibles hay un período de incubación corto, de aproximadamente 2 días antes de que la bolsa presente congestión y edema. Esto se hace más notable alrededor del 4° día. En la forma aguda se encuentra inflamación grave de la mucosa y un exudado amarillo en la superficie de la serosa. La forma crónica se presenta después de 16 días, hay atrofia de bolsa de Fabricio (B.F.) y necrosis multifocal en bazo, timo, tonsilas cecales y placas de Peyer (8).

La destrucción de las células B produce inmunodepresión con una respuesta de anticuerpos disminuida y un efecto adverso en la inmunidad celular. La inmunodepresión produce una disminución en la resistencia a las enfermedades virales y bacterianas (3,8).

La mortalidad varía de un 5-30%. La morbilidad es alta, hasta de un 80% cuando la parvada es totalmente susceptible. En los casos agudos la presentación es repentina y la recuperación es rápida (curso 7-8 días) (5,8,9).

Las aves muestran diarrea blanca acuosa, ataxia, temblores, postración, prurito de la cloaca, depresión, anorexia y plumas erizadas (8,17).

Lesiones:

Las lesiones de la B.F. varían de acuerdo a la evolución de la enfermedad, se pueden observar las siguientes lesiones (3, 5, 8, 9, 16):

- Aumento de volumen de la B.F. hasta el doble de su tamaño normal entre el tercero y quinto día post-infección, con edema é inflamación aguda.
- Atrofia de la B.F. hasta un tercio de su tamaño normal del quinto día en adelante.
- Hemorragias en la mucosa de la B. F., en los casos severos.
- Esplernomegalia.
- Hemorragias musculares en muslos y pechuga.
- Hemorragias en la unión del proventrículo y la molleja.
- Nefritis.
- Uratos en ureteres .

Diagnóstico:

La historia clínica, signos y lesiones macroscópicas son los indicios adecuados para reconocer la enfermedad aguda. En las formas menos graves ó cuando la bolsa no muestra lesiones típicas puede ser necesario el diagnóstico diferencial con Coccidiosis, Enfermedad de Newcastle, Síndrome hemorrágico, Avitaminosis A, Hígado graso y Síndrome renal (3,8).

Diagnóstico de laboratorio:

La confirmación del diagnóstico de los casos de IBF puede realizarse mediante diversas pruebas encaminadas al aislamiento del virus, a la demostración de la respuesta inmune por los animales afectados y/o a la detección de los antígenos virales

en los tejidos afectados.

1. Aislamiento: El aislamiento del virus de IBF puede realizarse mediante la inoculación del tejido bursal afectado a embriones de pollos libres de patógenos específicos de 9-11 días de edad por vía de la membrana corioalantoidea (3,8). Una vez aislado, el virus puede ser identificado mediante pruebas de inmunofluorescencia, seroneutralización o microscopía electrónica (3).

2. Serología: La aparición de anticuerpos neutralizantes y precipitantes, cuya concentración y persistencia están influidos por la edad a la infección y la gravedad de la enfermedad, pueden ser demostrados en muestras de animales convalecientes y ser utilizados para la confirmación del diagnóstico (8). Estos anticuerpos pueden ser demostrados por varias pruebas serológicas, las pruebas más utilizadas son las de Precipitación en agar (PA), Virus seroneutralización (VSN) e inmunoensayo enzimático (ELISA) (3,4,8).

2.1 Prueba de Precipitación Agar (PA):

La prueba de PA es una prueba sencilla, rápida, económica y muy utilizada para detectar exposiciones de campo al virus de IBF (4). La prueba de PA es una prueba cualitativa que detecta la presencia ó ausencia de anticuerpos contra IBF (10), la prueba se utiliza para detectar anticuerpos contra antígenos solubles específicos de grupo y no es capaz de detectar diferencias entre serotipos (3) por lo que no puede emplearse para pruebas de identificación de cepas variantes (10); la prueba de PA no es muy sensible y requiere que la muestra posea

una concentración de anticuerpos elevada, puede dar resultados falsos positivos o negativos y las aves negativas a esta prueba pueden tener títulos considerables de anticuerpos neutralizantes (4).

2.2 Prueba de Virus Suero Neutralización (VSN). La prueba de VSN fué la prueba serológica más utilizada para el diagnóstico de IBF hasta el advenimiento de la técnica de ELISA (3). La prueba de VSN es más sensible y específica que la prueba de PA, pero es más cara, más laboriosa, requiere de equipo y personal especializado y tarda más tiempo en realizarse (4). La prueba de VSN es la única prueba que puede diferenciar entre los serotipos de IBF y es la prueba de elección para discernir las diferencias antigénicas entre los aislamientos virales de campo (3) por lo que ha sido empleada para comparar la identificación antigénica de la cepa prototipo del serotipo 1 contra las cepas variantes (10,21).

La prueba se lleva a cabo usando suero diluido y virus constante (técnica Beta) con 100 dosis infectantes para fibroblastos de embrión de pollo (Fepo50) según el título esperado pueden usarse diluciones dobles, triples ó quintuples (2).

Se necesita usar una cepa viral adaptada a fibroblastos de embrión de pollo para poder observar efecto citopático. Esta cepa se obtiene de vacunas comerciales preparadas con las cepas Lukert ó la PBG-98; las vacunas que producen lesiones en la BF (como la Bursa Vae) pueden no estar adaptadas a FEpo y no ser adecuadas para la prueba (10,19).

2.3 Prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA): La técnica de ELISA es actualmente la técnica serológica más utilizada para la detección y evaluación del perfil de anticuerpos contra IBF en las explotaciones avícolas (3). La técnica de ELISA ofrece muchas ventajas sobre las técnicas convencionales para la determinación de anticuerpos, ya que es más sensible y específica que las anteriores, es una prueba cuantitativa y semiautomatizada, y requiere menos tiempo que otras para producir resultados (3,4,10).

También se requiere de reactivos necesarios para la prueba, equipo de laboratorio disponible y personal capacitado. Para cuantificar los anticuerpos es necesario contar con un suero testigo ó referencia positivo y uno negativo, los cuales se comparan con los sueros problema mediante espectrofotómetro que puede conectarse a una calculadora programable que correlaciona el grado de absorción con el título ó cantidad de anticuerpos presentes en el suero (4).

3. Exámen Histopatológico: La observación microscópica de la bolsa puede determinar el tipo de lesión presente en el tejido y el tiempo aproximado de infección . Su desventaja es el costo y tiempo que requiere para arrojar resultados así como la incapacidad para determinar si las lesiones fueron causadas por IBF ó por otros agentes como el virus de la enfermedad de Marek ó por Aflatoxinas (5,9,15,16).

4. Prueba de Inmunofluorescencia: Detecta la presencia del virus en los tejidos de la BF, es una prueba rápida pero

requiere de su previa estandarización (10,16), si se detectan antígenos virales a partir de tejidos de casos de campo, se debe intentar el aislamiento en embrión de pollo o en cultivo de tejidos (3).

Control:

El virus es muy resistente a las condiciones físicas y agentes químicos, puede sobrevivir a temperaturas de 60°C (pero no a 70°C), es estable en un pH de 2 pero no en un pH de 12 (3,8).

Con frecuencia las medidas higiénicas con el propósito de erradicar la enfermedad de las instalaciones no tienen éxito, aún con despoblación, limpieza y desinfección; sin embargo, estas medidas son útiles para reducir la infección, ya que el virus puede permanecer infeccioso en el medio ambiente por lo menos 4 meses. Los desinfectantes más eficaces son el formaldehído y el yodo (8,10).

El inmunización es el principal método utilizado para el control de la IBF en las aves (3). La inmunización es especialmente importante en parvadas de aves reproductoras que proporcionen inmunidad materna a su progenie (3), con el objetivo de proteger a la progenie durante las dos primeras semanas de edad (3,7,8). Otra posibilidad de elección es la inmunización de los pollitos en las primeras semanas de vida para generar una inmunidad activa (14)

La estrategia más popular en el control de la IBF en pollo de engorda consiste en vacunar a las gallinas reproductoras, así los pollitos serán capaces de resistir a la infección con cepas

de campo durante los primeros días de su vida, cuando los anticuerpos maternos disminuyen a niveles subprotectores, se vacuna a los pollos con vacunas de virus activo (7,14,18).

El establecimiento de un calendario de vacunación con fechas adecuadas es crítico para establecer una protección óptima de la parvada. Si la vacaunación se efectua con la presencia de títulos elevados de anticuerpos maternos, estos interfieren con la eficacia de la vacuna; sin embargo, si por el contrario, la vacunación se retrasa hasta después de que los anticuerpos maternos llegan a niveles demasiado bajos, existe el riesgo de que se presente un brote de enfermedad antes de que la protección conferida por la vacuna llegue a ser efectiva (7,18).

En el caso de las aves reproductoras. hay que protegerlas contra la infección de campo en las primeras semanas de vida y hay que estimular una inmunidad duradera que persista durante el período de producción (14). El criterio más acertado parece ser la inmunización de las aves reproductoras a temprana edad con el virus activo y la revacunación antes del inicio de la producción del huevo con una vacuna de virus inactivado y emulsionado (10). Estos anticuerpos son transmitidos a la progenie y pueden proteger a las aves de un brote de IBF, según el nivel de anticuerpos maternos presentes, desde la primera hasta la cuarta semana de vida de las aves (8,10).

Existen diferentes cepas vacunales de virus activo, las cuales por su virulencia se han clasificado de la siguiente manera (12): cepas altamente atenuadas no inmunodepresoras, cepas

intermedias, que pueden causar algunas lesiones en los animales que son vacunados, pero que en presencia de anticuerpos maternos no producen lesiones ni inmunodepresión, y cepas virulentas que se utilizan con escasa frecuencia porque producen lesiones bursales e inmunodepresión (12).

Las vacunas "suaves" de IBF tienen escasa invasividad hacia la bolsa de Fabricio, pero pueden ser neutralizadas por niveles elevados de anticuerpos maternos. Las vacunas altamente patógenas de IBF (calientes) son sumamente invasivas, aunque no interfieren con ellas los anticuerpos maternos (3,6,12). Una vacuna altamente descable es aquella que tenga propiedades de invasividad intermedia y que no sea interferida por los anticuerpos maternos; siempre se debe tomar en cuenta que algunas vacunas de virus vivo pueden producir efectos detrimentales en los animales vacunados (6), algunas cepas intermedias pueden generar atrofia bursal en pollos libres de patógenos específicos inoculados al 1er día o a las tres semanas de edad (3).

Para la primovacunación de reproductoras se recomienda el empleo de una cepa suave que no cause lesiones en BF y después revacunar a las aves con una cepa intermedia a una mayor edad (14). Finalmente se recomienda el empleo de una vacuna de virus modificado emulsionado antes del inicio de la producción (10).

El momento de la aplicación de una vacuna de virus activo en animales jóvenes se determina en base a los anticuerpos maternos presentes. Las vacunas virulentas superan títulos de

anticuerpos maternos de 1:500, las vacunas intermedias de 1:250 y las vacunas suaves de 1:100 (3), hay que recordar que los anticuerpos maternos tienen una vida media entre 3-5 días. Mientras más altos su duración es menor y a medida que disminuyen su vida media es mayor. Las cepas intermedias se recomiendan en granjas de edades múltiples con deficientes sistemas de limpieza y desinfección y tiempo entre parvadas muy corto (10).

La vacunación no se sinónimo de inmunización, cuando se usan vacunas vivas a edad temprana, algunas aves no responden adecuadamente por factores de estrés medioambiental, deficiencias nutricionales, consumo de micotoxinas, enfermedad de Marek o bien porque fueron aplicadas cuando estaba presente un brote subclínico de IBF (7,12).

HIPOTESIS

Existen diferencias en la virulencia de 4 aislamientos de IBF del Departamento de Producción Animal: Aves, F.M.V.Z., U.N.A.M.

OBJETIVO:

Determinar el grado de virulencia de los aislamientos 1, 2, 3 y 4 del Laboratorio de Virología del Departamento de Producción Animal: Aves, F.M.V.Z., U.N.A.M.

MATERIAL Y METODOS

1. Animales de experimentación: Se utilizaron 44 pollas Leghorn SPF de 4 semanas de edad, las cuales fueron mantenidas en una unidad de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Las aves se mantuvieron bajo un sistema de crianza en piso con ambiente controlado; el alimento y el agua se administraron a libre acceso.

2. Cepas virales: Se utilizaron 4 aislamientos de virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio del Departamento de Producción Animal: Aves, FMVZ procedentes de casos clínicos de IBF, las cuales fueron identificadas como sigue:

(1)(2)(3)(4)

Los aislamientos fueron inoculados en embriones de pollo SPF de 9 días de edad por vía membrana corioalantoidea, los embriones inoculados fueron sacrificados 4 días después y el líquido amniótico fué utilizado como inóculo en el presente estudio, como ha sido descrito previamente (19), el inóculo no fué titulado.

3. Diseño experimental.

Las aves se asignaron al azar en 4 grupos de 10 aves cada uno y 1 grupo de 4 aves como control.

Los grupos se distribuyeron en línea y de extremo derecho a izquierdo se ubicaron como 1, 2, 3 y 4, según el aislamiento viral inoculado. El lote control se mantuvo en otra unidad de aislamiento y no recibió ninguna inoculación.

La inoculación se realizó aplicando 2 gotas del inóculo por vía

ocular y una gota del inóculo en el orificio cloacal, en cada uno de los animales de los grupos de 10 aves a las 4 semanas de edad.

MUESTREO.

Dos de los animales del lote control fueron muestreados el día de la inoculación de los aislamientos y dos animales 17 días después de la misma

Los animales de los lotes inoculados con los aislamientos fueron muestreados el día 5 y el día 17 postinoculación utilizando 4 aves de cada lote tomadas al azar.

Los animales seleccionados para el muestreo fueron sacrificados mediante choque eléctrico. Se obtuvieron los siguientes parámetros:

- Peso corporal. Se obtuvo mediante una báscula electrónica.
- Largo del tarso. Se obtuvo mediante un vernier.
- Peso de la Bolsa. Se obtuvo mediante una báscula electrónica.
- Diámetro de la BF. Se obtuvo mediante un vernier.

El índice bursal (IB) se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula descrita previamente (11)

$$IB = \frac{\text{peso de la BF}}{\text{peso corporal}} \times 100$$

el rango tarso bursal (RTB) se determinó mediante la siguiente fórmula descrita previamente (20)

Diámetro de la BF

$$RTB = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

Largo del Tarso

Cada animal fue sangrado para obtener 3 ml de sangre sin anticoagulante y una vez obtenido el suero se realizaron las siguientes pruebas:

- a) Prueba de Virus Suero Neutralización en fibroblastos de embrion de pollo como ha sido previamente descrito (19).
- b) Prueba de ELISA según el sistema comercial KPL (MR).

Estudio Histopatológico.

Después de disecar, medir y pesar las BF de los animales muestreados, se colectaron muestras representativas de cada BF para ser fijadas en formalina amortiguada al 10%, procesadas por la técnica convencional de inclusión en parafina, cortadas a 4 um de espesor y coloreadas con la técnica convencional de Hematoxilina-Eosina.

Los cambios histológicos observados se registraron y se clasificaron como agudos, subagudos o intermedios y crónicos o tardíos de acuerdo a lo descrito previamente (5,9,15), el grado de severidad de las lesiones se determinó utilizando una escala arbitraria de 0 a 3 donde 0 = sin lesión; 1 = Leve; 2 = moderado; 3 = severo, considerando en las siguientes lesiones la intensidad del cambio y la distribución expresada en portectaje:

Edema subepitelial y/o interfolicular, necrosis linfoide, depleción linfoide medular, depleción linfoide total,

infiltración de heterófilos, hiperplasia del epitelio superficial, hiperplasia del epitelio corticomedular, hiperplasia reticular, fibrosis subepitelial y/o interfolicular y atrofia folicular.

RESULTADOS

1.- Signos.

No se observaron signos clínicos en ninguno de los animales inoculados durante el período de estudio.

2.-Estudio morfométrico.

Los resultados de la determinación del IB y del RTB a los 5 y 17 días postinoculación se observan las figuras 1 y 2; 5 días después de la inoculación los animales del lote 1 presentaron un IB y un RTB menores a los de los otros lotes. Después de 17 días de inoculación IB y el RTB fueron estadísticamente similares en todos los lotes.

3.- Estudio histopatológico.

Los resultados de la interpretación de las lesiones se observan en el Cuadro 1.

a) Los animales muestreados no presentaron lesiones en la bolsa de Fabricio antes de la inoculación del virus de IBF.

b) 5 días postinoculación:

- Lote 1

Las lesiones principales observadas en los animales del lote 1 fueron depleción linfocítica medular moderada en la mayoría de los folículos (75% del corte) e hiperplasia del epitelio superficial moderada; en algunos de los folículos (10% del corte) se observó necrosis linfocítica leve; las lesiones de los 4

animales fueron similares y son compatibles a la fase intermedia de IBF con una intensidad moderada.

- Lote 2

Tres de los animales del lote 2 presentaron como lesiones principales necrosis linfoide severa en la mayoría de los folículos (75% del corte) y edema subepitelial moderado, compatibles a la fase aguda de IBF de intensidad severa; el otro animal de este lote presentó necrosis en algunos linfocitos medulares.

- Lote 3

Uno de los animales del lote 3 presentó necrosis linfoide severa en la mayoría de los folículos (75% del corte), edema subepitelial severo e infiltración por heterófilos leve, compatible a una fase aguda de IBF de intensidad severa. Los otros 3 animales presentaron depleción linfoide medular difusa leve, esta lesión se consideró poco específica para ser identificada como compatible con alguna de las fases de IBF.

- Lote 4

Los 4 animales del lote 4 presentaron depleción linfoide medular difusa leve, esta lesión se consideró poco específica para ser identificada como compatible con alguna de las fases de IBF.

c) A los 17 Días postinoculación:

Todos los animales de los 4 lotes presentaron lesiones del mismo tipo y de intensidad similar. Las lesiones observadas fueron depleción linfoide medular difusa moderada, hiperplasia moderada del epitelio superficial con la presencia de algunos

quistes de mucina intraepiteliales y fibrosis interfolicular de leve a moderada. Las lesiones corresponden a una fase intermedia de IBF de intensidad moderada.

4.- Estudios serológicos.

Los resultados de los estudios serológicos para la detección de Ac contra el virus de IBF se observan en las figuras 3 y 4.

a) Los animales muestreados no presentaron Ac contra el virus de IBF detectables por las pruebas de VSN y de ELISA antes de la inoculación.

b) 5 días postinoculación:

Después de 5 días postinoculación uno de los animales del lote 1 presentó un título de Ac contra IBF de 1:20 (4.3 log₂) detectado por la prueba de VSN, el resto de los animales no presentó Ac antiIBF detectables por esta prueba. Ninguno de los animales mostró poseer Ac detectables por la prueba de ELISA en este muestreo.

c) 17 días postinoculación:

Después de 17 días de la inoculación, los animales del Lote 1 presentaron un título de Ac antiIBF detectables por la prueba de VSN de 1:1280 a 1:5120, con una variaciones de una o dos diluciones entre sí. Los títulos de los animales de los lotes 2, 3 y 4 fueron menores y tuvieron una variación entre grupos de 2 a 5 diluciones. El título de Ac detectados mediante la prueba de ELISA fué más elevado y más homogéneo en el lote 1, seguido por los lotes 4, 3 y 2 respectivamente, los cuales mostraron una variabilidad mayor entre los animales del mismo lote.

DISCUSION

En el presente trabajo se evaluó la virulencia de 4 aislamientos del virus de IBF por estudios morfométricos, histológicos y serológicos, como ha sido previamente descrito por algunos investigadores con criterios particulares (4,5,9,11,19,20,).

Se han realizado diversos estudios de casos de campo y con inoculaciones experimentales del virus de IBF para dilucidar sus efectos patógenos. En 1980 (5) y en 1983 (9) se menciona que las inoculaciones experimentales del virus de IBF pueden producir signos y lesiones desde las 24 h posteriores a la inoculación; en 1983 (15) se hace mención que las lesiones microscópicas pueden ser clasificadas como productoras de fase aguda en 2 a 5 días postinfección, de fase intermedia entre los días 6 y 11 y tardías o crónicas si son mayores de 12 días, sin embargo la evolución de las lesiones puede presentar un comportamiento diferente dependiendo de la cepa viral involucrada y la dosis infectante, la edad de los animales y el estado funcional del sistema inmunológico (3), existen cepas virales denominadas "variantes" que pueden inducir incluso atrofia bursal sin generar previamente un proceso inflamatorio agudo (21); en 1987 (4) se menciona que los Ac pueden ser detectados en las infecciones de campo 4-5 días después de la infección y alcanzan sus niveles máximos en una o dos semanas. De acuerdo a lo anterior, los resultados obtenidos con el aislamiento 1 sugieren que este es un aislamiento patógeno de intensidad moderada, ya que no produce signos clínicos pero

produce disminución en el tamaño bursal y lesiones microscópicas clasificadas como intermedias después de 5 días, que persisten hasta por 17 días; el aislamiento 1 fué capaz de estimular una producción de Ac que empieza a ser detectada por VSN desde el día cinco y que es elevada y homogénea a los 17 días cuando es detectada tanto por VSN como por ELISA.

Los resultados del lote 2 indican una fase aguda en 3 de 4 animales al 5to día, sin la presencia de signos, modificaciones en el tamaño bursal o niveles de Ac detectables por VSN o ELISA; mientras que en el día 17 los 4 animales presentaron disminución en el tamaño bursal, lesiones intermedias y un título de Ac no muy elevado y muy irregular; uno de los animales no presentó lesiones al 5to día de inoculación. Las observaciones de campo (3) y las inoculaciones experimentales (5,9) indican que es posible que un animal sin signos clínicos presente lesiones bursales agudas; las lesiones observadas al 5to día parecen ser demasiado precoces en relación al tiempo transcurrido entre la inoculación y el muestreo, de acuerdo a lo descrito en 1983 (15), los títulos de anticuerpos detectados al día 17 fueron numéricamente menores a los del lote 1 y mostraron mayor heterogeneidad. Este comportamiento es similar al observado en condiciones de campo donde los animales no se infectan de manera simultánea y sugiere que el virus del aislamiento 1 pasó de los animales del lote 1 a los del lote 2 sin que el aislamiento 2 tuviera un efecto detectable en los animales inoculados. La posición de los lotes en la unidad de aislamiento parece apoyar también esta premisa.

El comportamiento de los animales del lote 3 fué similar al del lote 2 pero en este caso un sólo animal presentó lesiones agudas al 5to día de inoculación, sin Ac detectables al 5to día, mientras que los otros tres animales lesiones leves y poco específicas, ninguno de los animales presentó alteraciones en el tamaño bursal al 5to día postinoculación. Aparentemente el aislamiento inoculado (aislamiento 3) no tuvo efecto y el animal lesionado se infectó con el aislamiento del lote 1, ya que sólo uno de cuatro animales inoculados presentó lesiones severas y dichas lesiones son compatibles con un curso menor al tiempo de la inoculación. Después de 17 días de inoculación, todos los animales de este lote presentaron disminución en el tamaño bursal, lesiones bursales en fase intermedia, con títulos de Ac numéricamente menores y de variabilidad mayor a los observados en el lote 1, de manera similar a la descrita en las observaciones de los brotes naturales (3,8). La posición de los lotes en la unidad de aislamiento sugiere también que el virus se transmitió horizontalmente del lote 1 al lote 2 y posteriormente de éste al lote 3.

Los animales del lote 4 no presentaron signos, alteraciones en el tamaño bursal ni Ac al 5to día postinoculación, las lesiones bursales consistieron en depleción linfocítica medular leve. Estos resultados sugieren que el aislamiento inoculado no es patógeno o bien estaba inactivado. Las lesiones observadas al día 17, correspondientes a una fase intermedia y la irregularidad en los títulos de Ac detectados por las pruebas de VSN y ELISA sugieren que los animales de este lote se infectaron de manera

horizontal a partir de los otros lotes en un tiempo mayor de 5 días después de la inoculación.

Estos resultados sugieren que el aislamiento 1 tuvo un efecto patógeno homogéneo y moderado en los animales del lote 1 y que se difundió de manera horizontal y progresivamente hacia los animales de los lotes 2, 3 y 4 respectivamente. Los aislamientos 2, 3 y 4 aparentemente no tuvieron efectos detectables en los animales inoculados posiblemente por ser no patógenas, por estar muy atenuados por pases in vitro.

La identificación de los aislamientos de campo debe incluir estudios de virulencia en animales susceptibles y estudios para la serotipificación del aislamiento con antiseros de referencia. Estos estudios deben realizarse en unidades de experimentación completamente aisladas para cada aislamiento a probar de tal manera que se evite la transmisión de los virus estudiados entre los animales de experimentación, como se observó en el presente trabajo.

LITERATURA CITADA

1. Beltrán R: El diagnóstico de la Infección de la Bolsa de Fabricio: Bursómetro y anticuerpos Precipitantes. Tesis Licenciatura, F.M.V.Z., U.N.A.M. 1981.
2. Buxade, C.: El pollo de Carne Sistemas de Explotación y Técnicas de Producción. Ediciones Mundi-Prensa, España, 1985.
3. Calnek, B.: Diseases of Poultry, 9a Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. 1991.
4. Castillo, M. Lucio, B. y Hernández, R.: Comparación de las pruebas de precipitación en agar, neutralización viral e inmunoadsorción enzimática en la determinación de anticuerpos contra la infección de la bolsa de Fabricio. Vet. Mex. 18: 318-319 (1987).
5. Craig, W., Brewer, A. and Edgar, S.: Studies on infectious bursal disease in chickens: I Effect of infectious bursal disease in gnotobiotic and battery raised White Leghorn. Poultry Sci. 59: 1006-1017 (1980).
6. García, O.: Aspectos clínicos e histopatológicos en la prevención de la infección de la bolsa de Fabricio. Tesis de Licenciatura. F.E.S.C., U.N.A.M., Cuautitlán, México 1985.
7. Giambone, J.: Gumboro vaccines, hard-hitting advice. Broiler Industry. October: 80-87 (1983).
8. Gordon, R.: Enfermedades de las Aves, Ed. El Manual Moderno, México, 1980.
9. Ley, D., Yamamoto, R. and Bickford, A.: The

pathogenesis of infectious bursal disease: serologic, histopathologic and clinical chemical observation. Avian Dis. 27: 1060-1084 (1983).

10. Lucio, B.: La infección de la bolsa de Fabricio. Memorias II Jornada Médico Avícola, E.M.V.Z., U.N.A.M., México, 1991.

11. Lucio, B. and Hitchner, S.: Immunosuppression and active response induced by infectious bursal disease virus in chickens with passive antibodies avian. Avian Dis. 24:189-196 (1980).

12. Lukert, P.: Effects of bursal disease. Poultry Digest Nov.: 546 (1983).

13. North, M.: Commercial chicken production manual., 3 Ed. The Avi Publishing Company Inc. Westport Connecticut, USA. 1984.

14. Olbers, K.: Prevención de la infección de la bolsa de Fabricio (Enfermedad de Gumboro) por medio de vacunas inactivadas, en Memorias del Primer Seminario sobre la prevención y control de la Infección de la bolsa de Fabricio. A.N.E.C.A.-U.N.A.M., México, 1983.

15. Paasch, L.: Secuencia en la presentación de lesiones histopatológicas en la bolsa de Fabricio de aves afectadas con IBF, en Memorias del primer seminario sobre la prevención y control de la infección de la bolsa de Fabricio, A.N.E.C.A.-U.N.A.M., México, 1983.

16. Rojo M.: Enfermedad de las Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Editorial Trillas. México, 1983.

17. Salazar V.: Evaluación de la Protección contra la Infección de la bolsa de Fabricio. Tesis de Licenciatura , E.M.V.Z., U.N.A.M. 1983.
18. Sharma, J.: Fisiopatología del sistema inmunológico y efectos de la infección viral sobre las células inumológicas, en Memorias del Curso Sobre fisiopatología sistémica de la gallina doméstica. A.N.E.C.A-U.N.A.M., México, 1987.
19. Snyder, D. and Marquard, M: Enzyme Immunoassay for Poultry Monitoring. En A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. Ed por Purchase H.G. American Assoc. of Avian Pathologists 3a ed 1989.
20. Rountree, J.: The technique for quantification of thymus, bursa and other changes. Program Consultant Avian Health and Managment. Litdifiel, M.E., U.S.A.
21. Villegas, P.: Las cepas variantes de Gumboro. Avicultura Profesional 4: 114 (1986).

FIGURA 1 INDICE BURSAL EN POLLOS

INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF

	DIA 5	DIA 17
AISLAM. 1	0.19 (0.06)	0.12(0.02)
AISLAM. 2	0.47 (0.16)	0.15 (0.02)
AISLAM. 3	0.52 (0.15)	0.18 (0.05)
AISLAM. 4	0.51 (0;06)	0.14 (0.02)
CONTROL	0.50(0.16)	0.40 (0.08)

PROMEDIO (DESV. ESTANDAR)

**FIGURA 1 INDICE BURSAL EN POLLOS
INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF**

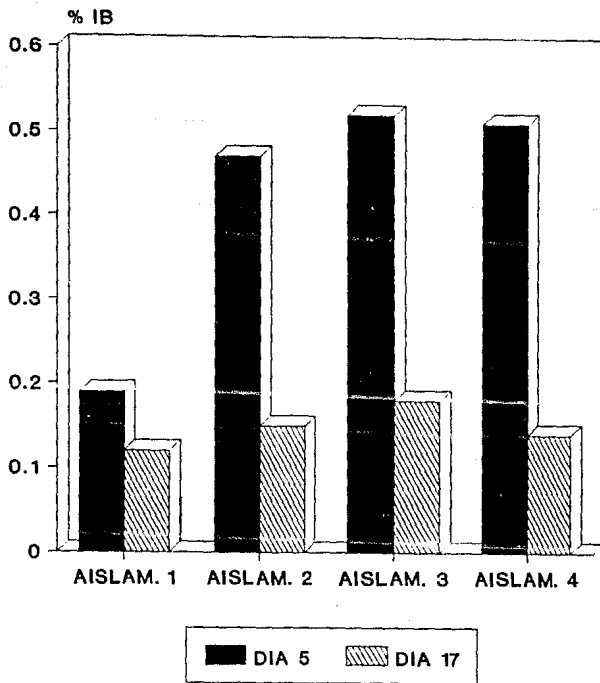


FIGURA 2 RANGO TARSO BURSAL EN POLLOS
INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF

	DIA 5	DIA 17
AISLAM. 1	18.77(2.18)	18.09(1.36)
AISLAM. 2	24.07(4.05)	20.42(0.87)
AISLAM. 3	24.25(1.55)	20.35(2.75)
AISLAM. 4	27.24(0.63)	18.2(2.41)
CONTROL	24.40(2.05)	26.08(2.60)

PROMEDIO (DESV.ESTANDAR)

FIGURA 2 RANGO TARSO BURSAL EN POLLOS INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF

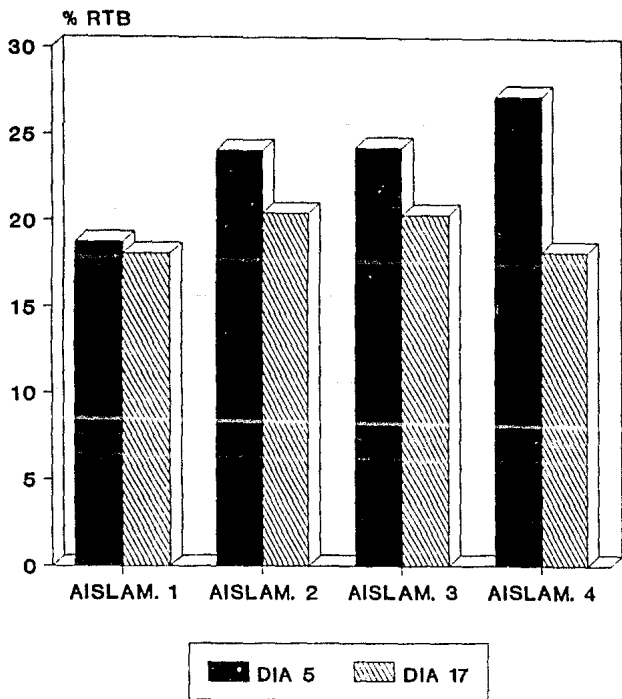


FIGURA 3 TITULO DE Ac POR VSN EN POLLOS

INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF

	DIA 5	DIA 17
AISLAM. 1	0.75(1.5)	10(0.81)
AISLAM. 2	0	6.66(2.5)
AISLAM. 3	0	6.5 (2.06)
AISLAM. 4	0	6.2 (1.73)
CONTROL	0	0

PROMEDIO (DESV.ESTANDAR)

FIGURA 3 TITULO DE Ac POR VSN EN POLLOS INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF

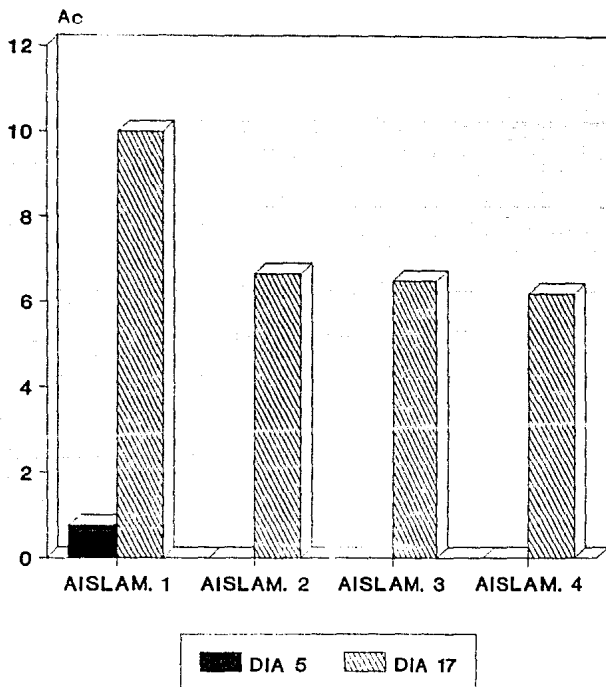


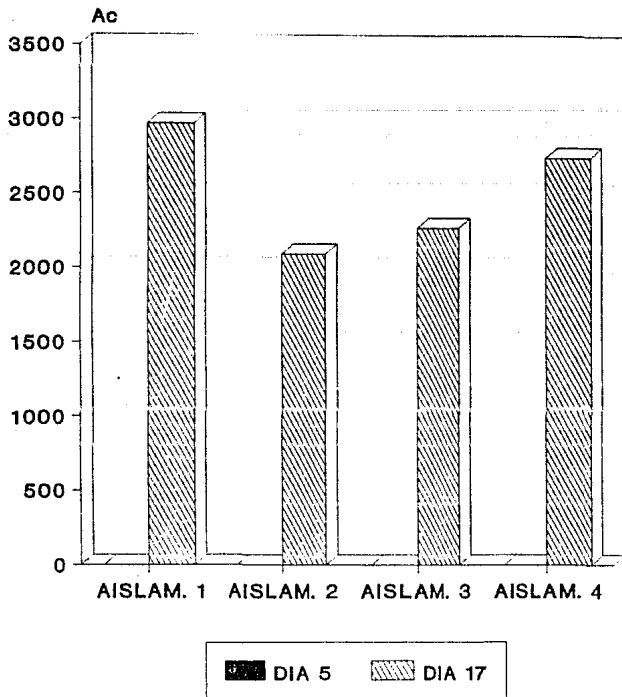
FIGURA 4 TITULO DE Ac ELISA EN POLLO

INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF

	DIA 5	DIA 17
AISLAM. 1	0	2969.25(642)
AISLAM. 2	0	2090.75(875)
AISLAM. 3	0	2267.75(1405)
AISLAM. 4	0	2741.75(1970)
CONTROL	0	0

PROMEDIO (DESV. ESTANDAR)

FIGURA 4 TITULO DE Ac ELISA EN POLLO INOCULADOS CON 4 AISLAMIENTOS DE IBF



CUADRO 1**INTERPRETACION DE LAS LESIONES BURSALES
EN POLLOS INOCULADOS CON 4
AISLAMIENTOS DE IBF.**

	DIA 5	DIA 5	DIA 17	DIA 17
LOTE	CURSO DE LA LESION	INTENSIDAD	CURSO DE LA LESION	INTENSIDAD
1	FASE INTERMEDIA (4/4)	MODERADA (7.33)	FASE INTERMEDIA (4/4)	MODERADA (4.5)
2	FASE AGUDA (3/4) DEPLECION LEVE (1/4)	SEVERA (6.75)	FASE INTERMEDIA (4/4)	MODERADA (4.75)
3	FASE AGUDA (1/4) DEPLECION LEVE (3/4)	SEVERA (2.5)	FASE INTERMEDIA (4/4)	MODERADA (4.0)
4	DEPLECION LEVE (4/4)	LEVE (2.5)	FASE INTERMEDIA (4/4)	MODERADA (4.75)