

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



## ASPECTOS CLINICOS E HISTOPATOLOGICOS EN LA PREVENCION DE LA INFECCION DE LA BOLSA DE FABRICIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A

ENRIQUE OSCAR GARCIA VERA

ASESOR: M. V. Z. ARIEL ORTIZ MUÑIZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

# I N D I C E

	Pags.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVO.....	14
MATERIAL Y METODOS .....	15
RESULTADOS.....	17
CUADROS.....	19
GRAFICA.....	27
DISCUSION.....	28
CONCLUSIONES.....	29
LITERATURA CITADA.....	30

**R E S U M E N .**

Se efectuó un estudio histopatológico del efecto de cuatro cepas vacunales del virus de la enfermedad de Gumboro (IBF) sobre la bolsa de Fabricio bajo condiciones de campo.

Encontrando que las cuatro cepas vacunales utilizadas en este trabajo, en mayor o menor grado produjeron alteraciones en la bolsa de Fabricio y los títulos de anticuerpos estimulados por dichas cepas vacunales durante el experimento, no alcanzaron los niveles señalados en la literatura para ser resistentes al desafío en el campo.

## INTRODUCCION.

La bolsa de Fabricio y el Timo son los órganos linfoides primarios de las aves y su presencia es esencial para el para el desarrollo de los tejidos linfoides periféricos al igual que sus funciones inmunes.

El sistema linfoide de la gallina está dividido morfológica y funcionalmente en dos distintos componentes: los dependientes del Timo, que son representados por los linfocitos "T" encargados de la inmunidad celular y los dependientes de la bolsa de Fabricio que se encuentran representados por los linfocitos "B" que tienen a su cargo el desarrollo de las células plasmáticas y la producción de anticuerpos (23,37, 43).

La bolsa de Fabricio es un órgano linfoepitelial de las aves, de forma redonda situado en la región dorsal de la cloaca.

En la vida embrionaria, la bolsa se origina al cuarto día de incubación como una proliferación epitelial del área caudal ventral de la cloaca y del epitelio externo del ectodermo.

Por el décimo día de incubación, la bursa desarrolla un lumen y se inicia la formación de prolongaciones, quedando este recubierto por un epitelio cilíndrico simple. Al doceavo día comienza la formación de folículos linfoides y alrededor del catorceavo día comienza la linfopoyesis apareciendo linfoblastos que subsecuentemente se diferencian en linfocitos grandes, medianos y pequeños, aparece también la formación de corteza y médula (23,37).

Al momento del nacimiento la bursa está completamente desarrollada teniendo un peso aproximado de 0.04 gramos y su peso en relación al peso corporal alcanza hasta la cuarta semana el 0.42% y posteriormente decae lentamente hasta que por la décima semana su peso es solo el 0.3% aproximadamente del peso corporal, para que alrededor de las 23 semanas la bursa sea unicamente residuos.

Este órgano esta completamente desarrollado en pollos jóvenes y sufre regresión cuando comienza la madurez sexual (19,23).

Histológicamente la bolsa de Fabricio definitiva está compuesta de cuatro estratos básicos:

1.-Una capa serosa.

2.-Una muscular, constituida por dos capas: una longitudinal externa y una circular interna, entre este estrato y la base de cada pliegue se encuentran las principales ramificaciones de vasos sanguíneos y nervios.

3.-La mucosa está dividida en dos componentes: El armazón de tejido conjuntivo y los folículos.

a) El tejido conjuntivo consiste en fibras de colágena con numerosas fibras reticulares rodeando los folículos.

b) La mucosa está formada en su interior por aproximadamente 10-15 prolongaciones verticales las cuales poseen entre 8,000 y 12,000 áreas foliculares (19), teniendo una área aproximada cada pliegue de  $6.6 \text{ mm}^2$ , cada pliegue consiste principalmente de un gran número de folículos los cuales estan separados por tejido conjuntivo, cada folículo poseé una corteza y una médula, ambas teniendo un soporte de células reticuloepiteliales cuya trama está compuesta por células linfoides.

La corteza está compuesta por linfocitos pequeños, linfo-

blastos y macrófagos. En la unión de la corteza y médula existe una membrana basal y una red capilar dentro de la cual hay células epiteliales, las cuales al dirigirse al centro son sustituidas por linfoblastos y linfocitos.

4.-El epitelio de los pliegues es de tipo cilíndrico simple a pseudoestratificado cilíndrico simple.

Este órgano toma parte en varias funciones (37) entre las cuales podemos mencionar:

- a) Producción de anticuerpos.
- b) Hipersensibilidad inmediata.
- c) Reacciones de hipersensibilidad retardada.
- d) Fagocitosis.

#### A. Historia.

La bursitis infecciosa se reportó primeramente al final de la década de los 50<sup>s</sup> en el distrito de Gumboro Delaware E.U.A. (20,24) y el reconocimiento de una enfermedad específica que afectaba la bursa de los pollos fué reportada por Gros Grove en 1962, denominándole nefrosis aviar, debido a los daños severos que se producían en el riñón de las aves que sucumbían a la enfermedad y que en su momento fué necesario diferenciar esta entidad, del virus de la bronquitis infecciosa con tendencia nefrotóxica, para que en posteriores estudios se lograra el aislamiento del agente causal (7,45).

#### B. Distribución e incidencia.

La bursitis infecciosa, enfermedad de Gumboro o enfermedad infecciosa bursal como también se le denomina ha sido reportada en la mayoría de las áreas avícolas del mundo:

Alemania del Oeste, Israel, E.U.A. (24), Puerto Rico, Canada (25), Inglaterra, Holanda (30), Bélgica, Italia, Francia, España, Rumania, Polonia, Suiza, Nigeria, India, Japón, Australia (6).

En México fué hasta el año de 1965 cuando se comenzó a observar signos cuyas características clínicas semejaban a las descritas en la infección de la bolsa de Fabricio (44) y en el año de 1969, esta enfermedad es descrita en México (5).

En nuestro país la enfermedad fué poco comun o mejor dicho no debidamente identificada en la década de los 60<sup>º</sup>, pero en la década de los 70<sup>º</sup> dicha entidad patológica fué demostrada mediante encuestas serológicas a nivel nacional, encontrandose el 90.5% de las parvadas positivas.

#### C. Características del agente causal.

En la actualidad el agente causal de la bursitis infecciosa no está plenamente identificado con alguno de los grupos taxonómicos conocidos actualmente, se sabe que se trata de un virus R N A de doble banda de forma icosaedrica con un diámetro de 62 nm, siendo resistente al cloroformo y al éter, estable a pH 2 y moderadamente termolábil (4,20), este virus se replica en el citoplasma (4).

Algunos autores proponen clasificarlo en una nueva familia denominandole Birnaviridae. El genoma del R N A tiene solamente dos segmentos y la capsida del virión consiste de cuatro proteínas estructurales y teniendo 32 capsomeros (24).

El agente permanece relativamente inafectado por variaciones físicas y químicas en su ambiente. Es capaz de sobrevivir hasta 60<sup>º</sup>C, permaneciendo estable en pH ácido y aunque es resistente a los solventes orgánicos, es moderadamente susceptible a formalina y compuestos yodados (4,6,20,24).

#### Tipos antigénicos.

Entre diferentes cepas de IBF se han observado dos sero

tipos encontrándose variación antigénica entre uno de ellos y estudios de inmunidad cruzada no han determinado si los diferentes serotipos producen protección cruzada (24,32).

#### D. Patogenia.

El virus afecta primeramente los linfocitos derivados de la bursa (linfocitos "B").

El virus se replica inicialmente en el citoplasma de los linfocitos y macrófagos.

A las 6 hrs. hay numerosas partículas virales sin membrana alrededor y a las 7 hrs. se forma una membrana que segrega grumos de virus y posteriormente se produce lisis celular, liberación viral y diseminación del virus hacia otras células de la bolsa.

A las 18 hrs. los folículos linfoides de la bolsa están casi sin células linfoides (6,21,26).

En condiciones naturales en la transmisión por vía oral las aves presentan a las 24 hrs. una viremia temporal y el virus permanece hasta 10 días en la bolsa de Fabricio y en el intestino (6), se inicia la necrosis de los folículos linfoides y en los 3-4 días siguientes el tejido linfoide se atrofia y en ocasiones se observa una ligera regeneración de los folículos 7-10 días después, siempre y cuando no sean destruidos totalmente (11).

Otros tejidos linfoides no se afectan tan intensamente como la bolsa de Fabricio y los cambios solo se observan en aquellas zonas donde los linfocitos "B" normalmente se agrupan (8,9,11,27,39).

## E. Epizootiología.

### a). Transmisión

La enfermedad es muy contagiosa y se difunde rápidamente entre aves afectadas y sanas. Se transmite principalmente por vía digestiva (agua, alimento contaminado y por contacto directo).

Experimentalmente se ha transmitido por vía oral, intramuscular, subcutánea, intravenosa, ocular, intranasal, intracloacal e intracerebral (6, 20, 24). El virus puede permanecer en el alimento, cama, equipo y locales hasta 122 días, se ha demostrado que el Alphitobius diaperinus puede tener capacidad infectante al ser ingerido por las aves, se desconoce si estas pueden quedar como portadores sanos o si la enfermedad se transmite por el huevo (22, 24).

El agente causal es eliminado en las heces de aves infectadas hasta por 2 semanas (20).

### b). Huesped natural y susceptible.

El virus afecta primeramente a los pollos siendo más susceptibles entre las 3 y 6 semanas de edad (11, 15, 22, 24, 28) pero también se ha observado aves afectadas entre los 84 y 128 días de edad (2). El virus se ha aislado de pavos y patos así como también del mosquito Aedes vexans aunque de este último resultó ser no patógeno para los pollos (24).

### c). Morbilidad y mortalidad.

La morbilidad varía en un rango del 20% hasta el 90-100% (24, 28, 48).

La mortalidad varía del 4% al 30% dependiendo de la presencia de anticuerpos, edad, virulencia del virus y condiciones ambientales (6). Se presenta al tercer día de la infección

y cesa entre los 5 y 7 días post-infección.

d). Periodo de incubación y signos clínicos.

El periodo de incubación y signos clínicos de la enfermedad aparecen entre 2 y 3 días.

Signos clínicos.

La enfermedad puede presentarse en una forma subclínica, benigna o severa.

Las aves afectadas presentan depresión severa, plumas erizadas, temblores musculares, incoordinación diarrea acuosa, postración, anorexia, algunas aves tienden a picarse su propia cloaca y las plumas de esta área están manchadas, las aves afectadas se rehusan a moverse, existe deshidratación y muerte.

Lesiones.

A la necropsia las aves están deshidratadas, existiendo hemorragias petequiales ó equimóticas frecuentemente en los músculos del muslo y pectorales, en el intestino puede existir un contenido mucoso (7,20,22,28), en los animales que mueren por la enfermedad los riñones se encuentran aumentados de tamaño y en ocasiones con presencia de uratos, lo que probablemente es consecuencia de la deshidratación severa que sufren los animales afectados, mientras que las aves sacrificadas durante el curso de la enfermedad los riñones aparecen normales.

La bolsa de Fabricio es el órgano blanco del virus por lo que al tercer día de la infección comienza a incrementar su tamaño y peso alcanzando el doble de su tamaño, al cuarto día se inicia la disminución de tamaño de la bolsa para que al octavo día la bolsa tenga un tercio de su tamaño original.

Alrededor del segundo-tercero día de la infección el lumen de la bolsa contiene un exudado de consistencia gelatinosa de color amarillento y conforme pasa el tiempo toma una apariencia caseosa, las prolongaciones longitudinales al principio están prominentes y conforme avanza la infección estas prolongaciones disminuyen de tamaño, la mucosa puede tener petequias, equimosis y focos necróticos.

El bazo se encuentra aumentado de tamaño y puede existir focos grisáceos en su superficie. En la parte interna de la unión del proventriculo con la molleja pueden observarse hemorragias de tipo petequeial (24).

#### Histopatología.

Las lesiones microscópicas en la bursitis infecciosa ocurren primeramente en estructuras linfoides como: bolsa de Fabricio donde las lesiones son más severas y evidentes, bazo, timo, glándula de Harder y tonsilas cecales.

Las lesiones en los órganos afectados en la IBF, de acuerdo a su grado de severidad se han clasificado de la siguiente manera (8,9,24,28,36):

#### Bolsa de Fabricio.

0: Bolsa de Fabricio normal.

1 + .-La bolsa de Fabricio puede o no tener una pequeña cantidad de exudado, su serosa aparece engrosada existiendo algo de hiperemia e infiltración de heterófilos. En los folículos aparecen linfocitos con núcleos picnóticos, algunos espacios vacíos entre el tejido conectivo y las células, posiblemente debido al edema.

2 + .-El lumen contiene un pequeño acúmulo de exudado compuesto por heterófilos, eritrocitos y unas cuantas células

plasmáticas y macrófagos. El exudado es visto en la serosa, mientras que en los folículos existe una infiltración de heterófilos. La corteza y la médula de los folículos se hacen indistinguibles una de otra y las prolongaciones de la bolsa se atrofian.

3 + .-Existe gran acúmulo de exudado en el lumen de la bolsa compuesto por heterófilos en degeneración, algunos eritrocitos, células plasmáticas y macrófagos. Hay hiperemia e infiltración de heterófilos en los folículos y la médula de los mismos está libre de linfocitos, en algunos de ellos existe acúmulo de eosinófilos.

4 + .-Hay exudado del mismo tipo celular anteriormente mencionado, se observa edema en la serosa y submucosa y puede haber vacuolas en las prolongaciones.

Debido a la ausencia total de linfocitos existe una proliferación del epitelio de la bursa, produciéndose una estructura de apariencia glandular del epitelio columnar simple.

#### Bazo.

Existe una pronunciada infiltración de heterófilos en los sinusoides; en ocasiones se observan algunas hemorragias y en los centros germinales existen restos celulares, núcleos p<sub>i</sub>cnoticos y material eosinófilo.

#### Timo.

El timo en su corteza tiene algunos espacios vacíos con una pronunciada hiperemia. Presenta infiltración de heterófi los especialmente en médula, existiendo en la corteza disminución de linfocitos y agregaciones de restos celulares y núcleos p<sub>i</sub>cnóticos.

**Riñón.**

Las lesiones histológicas del riñón no son específicas y es probable que ocurran por la severa deshidratación que sufren los animales afectados (24), aunque se ha reportado glomerulonefritis y vasculitis resultado de la formación de complejos inmunes (27), así como atrofia de glomerulos, edema e infiltración de heterófilos y leucocitos mononucleares.

**Higado.**

Puede existir una ligera infiltración perivascular de mononucleares.

**Tonsilas cecales, Glándula de Harder.**

Estos órganos exhiben alguna reacción celular en los estadios tempranos de la enfermedad, caracterizada por un infiltrado de células plasmáticas (24).

**F. Diagnóstico.****a).-Diagnóstico presuncional.**

Un principio rápido de la enfermedad, con una mortalidad alta con rápida recuperación, edad de afección, signos clínicos y lesiones a la necropsia proporcionan bases para un diagnóstico adecuado de la enfermedad (6).

**b).-Diagnóstico de laboratorio.**

1.-Infecciones de pollitos y pollos juvenes con anticuerpos maternos sufren la infección subclínica (1) y pueden diagnosticarse retrospectivamente a la necropsia con observaciones macroscópicas y confirmandolo mediante el estudio histopatológico.

2.-Inmunodifusión en agar.

El virus de Gumboro tiene un antígeno soluble específico

de grupo que constituye la base para la realización de la prueba, el método es cualitativo no cuantitativo (13).

La técnica se puede utilizar para detectar aves reactivas.

Los sueros de aves que resultan negativos, pueden ser positivos con pruebas más sencibles como la virus-seroneutralización.

### 3.-Virus-seroneutralización.

Este método es de mayor sencibilidad que el de inmunodifusión en agar y es un método cuantitativo que mide los niveles de anticuerpos presentes en las aves (40,41), se considera un título protector para el ave de 1:100 unicamente para el 40% de la parvada y títulos superiores de 1:600 de buena protección para la parvada (24).

### 4.-Aislamiento e identificación del agente causal.

Se hace con bolsas de Fabricio que se maseran y se tratan con antibióticos y solución salina fisiológica, se centrifuga, el sobrenadante se inocular en embriones de 9-11 días de vida por vía de la membrana corioalantoidea (9,22).

También puede ser producido en cultivos celulares de bolsa de Fabricio, ríñón, fibroblastos de embrión de pollo (6,24) aunque algunas cepas de virus ofrecen dificultad para replicarse y unicamente lo hacen en embriones ó cultivos de bursa.

5.-Otras pruebas de laboratorio que pueden ser utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad son:

ELISA, inmunofluorescencia, prueba indirecta de ELISA y microscopía electrónica (6,22,24).

### G. Prevención y control de la enfermedad.

Para poder efectuar un programa adecuado en el control de

la bursitis infecciosa se deben tomar en cuenta ciertos factores:

- a).-Edad y estado inmunológico del pollo.
- b).-Tipo de vacuna.
- c).-Fin zootécnico.

a).-Edad y estado inmunológico del pollo.

Se debe tratar que las reproductoras transfieran inmunidad a la progenie ya que los anticuerpos maternos protegerán al pollito aproximadamente 1-5 semanas dependiendo del nivel de estos al ser transferidos.

Debe tomarse en cuenta que con títulos de virus seroneutralización de 1:64 ó cuando los títulos sean dispares debe aplicarse la vacunación con el fin de proteger a la mayoría de la parvada (48).

b),c).-Tipo de cepa vacunal y fin zootécnico.

Existen diferentes tipos de cepas vacunales virus vivo las cuales por su patogenicidad se han agrupado como suave o altamente patógenas.

Las vacunas suaves de IBF son pobres en su invasión de la bolsa, pero pueden ser neutralizadas por niveles altos de anticuerpos maternos. Las vacunas altamente patógenas de IBF son sumamente invasivas y no interfieren con ella los anticuerpos maternos. Una vacuna altamente deseable sería aquella que tenga propiedades de invasibilidad intermedia y no exista interferencia con los anticuerpos maternos (18,42,46), tomando en cuenta que las vacunas de virus vivo de IBF producen efectos detrimentales en el pollo (10).

Existen en el país diversas cepas de IBF vacunales de virus vivo, entre las cuales podemos mencionar: D-78, PBG-98, EB-32

## Luckert.

Existen vacunas emulsionadas inactivadas de IBF, las cuales se utilizan en progenitoras ó reproductoras con el fin de que al ser más persistentes los anticuerpos, estos sean transferidos a su progenie y los protejan de la infección durante los primeros días de vida (24).

## H. Efecto del virus.

El efecto del virus sobre las aves es la inmunosupresión que es producida por la destrucción de los linfocitos encargados de producir los anticuerpos, el efecto del virus de IBF en la respuesta inmune mediada por células es menos obvia que en la respuesta humoral (24).

Existe supresión de la respuesta inmune a vacunaciones como: Newcastle, Bronquitis, Mycoplasma synoviae (17), Marek (29), no solamente la respuesta a vacunaciones es disminuida, así como también animales infectados durante las primeras semanas de vida con IBF son más susceptibles a infecciones como: Coccidiosis (34), Marek (2), Dermatitis gangrenosa (20, 24, 38), Laringotraqueítis, Micoplasmosis, Bronquitis, Salmonelosis, Colibacilosis (47), Hepatitis con cuerpos de inclusión (12, 20, 24), se han reportado también respuestas disminuidas en reacciones de hipersensibilidad (16, 24).

## I. Tratamiento.

Esta enfermedad no tiene tratamiento alguno, aunque se han hecho diversos estudios bursotomizando aves para evitar la replicación del virus pero los resultados no son concluyentes (33).

## O B J E T I V O

- 1.- Determinar el efecto de cuatro cepas vacunales de la enfermedad de Gumboro (IBF) sobre la bolsa de Fabricio bajo condiciones de campo, mediante un estudio histopatológico.
- 2.- Establecer cual de dichas cepas produce mejor nivel de protección.

## M A T E R I A L Y M E T O D O S

## a).-Lugar y duración del experimento.

El trabajo se llevó a cabo en la granja "El cerrito", propiedad del Sr. Sergio Aguilar, ubicada en Tlalnepantla edo. Méx. teniendo una duración de 2 meses.

## b).-Animales.

Se utilizaron 275 pollitos de engorda de un día de edad de la estirpe Arbor Acres, procedentes de una incubadora ubicada en Temixco Morelos. Los animales fueron alojados en locales de 1.5 X 1.5 mts. construidos dentro de una de las casetas de la granja, donde permanecieron hasta el final del experimento. Se utilizaron bebederos automáticos y comederos tubulares con capacidad de 8 Kgs.

## c).-Grupos experimentales.

Al primer día de edad se tomó al azar el 10% de la población una muestra de sangre para determinar mediante la prueba de virus seroneutralización el título de anticuerpos maternos contra la enfermedad de Gumboro, posteriormente fueron formados 5 lotes de 55 pollitos cada uno y a los cuales se les asignó una cepa vacunal de virus vivo de IBF aplicada vía agua de bebida quedando formados de la siguiente manera:

- LOTE A Cepa Luckert modificada
- LOTE B Cepa Luckert alto pasaje
- LOTE C Cepa PBG-98
- LOTE D Cepa EB-32
- LOTE E Testigo

A partir de las 24 hrs. de aplicación de la cepa vacunal se tomó la bolsa de Fabricio de aproximadamente el 10% de la población de cada lote durante días alternos, hasta totalizar el 100% de la población.

Las bolsas de Fabricio recolectadas se fijaron en solución de Bouin durante 36 hrs., posteriormente se procesaron e incluyeron en parafina, realizándose cortes de 5 micras de grosor y se colorearon con la técnica de hematoxilina-eosina (35) para su posterior observación.

Una vez por semana se tomaron muestras de sangre al 10% de la población de cada uno de los lotes para su posterior determinación de anticuerpos contra la enfermedad de Gumboro mediante la prueba de virus-seroneutralización.

Los sueros utilizados se manejaron con diluciones 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, etc., numerandolos respectivamente como: 1, 2, 3, 4, 5, etc.

Una vez obtenidos los valores, la evaluación de los resultados se llevó a cabo mediante un análisis de varianza aleatorio.

Las lesiones celulares encontradas en el estudio histopatológico se clasifican como: 0 : Sin cambios, 1: Mínimo, 2: Leve, 3: Moderado, 4: Marcado y 5: Severo.

Dichos valores se dieron de acuerdo al grado de severidad de tejido lesionado considerando los lineamientos hechos por diversos autores en la materia (8, 9, 28, 36).

Las lesiones que se manejaron fueron: necrosis linfoide, depleción linfoide, fibrosis, quistes e inflamación heterófila.

## R E S U L T A D O S

A la prueba de virus-seroneutralización 8 de 10 sueros resultaron negativos a la detección de anticuerpos maternos contra IBF al día de edad.

Al evaluar el daño producido por las cepas vacunales sobre la bolsa de Fabricio no se observaron signos clínicos ni lesiones a la necropsia en ninguno de los lotes.

A) Observaciones histológicas.

En los cuadros 1,2,3,4,5,6, aparecen los datos obtenidos de las observaciones histológicas de las diferentes cepas vacunales así como del grupo testigo.

En el lote A, se observó depleción linfoide en un 29% en grado mínimo y en un 25% en un grado leve, fibrosis en un 18.7% en grado mínimo, inflamación heterófila un 16.6% en grado mínimo y 6.25% en grado leve, no observándose necrosis linfoide ni quistes.

En el lote B se observó necrosis linfoide en un 12.5% en grado mínimo y un 16.6% en grado leve, depleción linfoide en un 52% en grado mínimo y un 10.4% en grado leve, fibrosis en un 37.5% en grado mínimo y 8.3% en grado leve, quistes en 16.6% en grado mínimo e inflamación heterófila en 6.25% en grado mínimo y 8.3% en grado leve.

En el lote C, se observó necrosis linfoide en un 20,8% en grado mínimo, 6.2% en grado leve, 8,3% en grado moderado y 6.2% en grado marcado, depleción linfoide en un 33% en grado mínimo, 18.7% en grado leve y 14.5% en grado marcado, fibrosis en un 20.8% en grado mínimo y el 27% en grado leve, quistes en un 35.4% en un grado mínimo y un 14.5% en grado leve, infla-

mación heterófila en un 14.5% en grado mínimo y el 39.5% en un grado leve.

En el lote D se observó un 14.5% en un grado mínimo necrosis linfoide, depleción linfoide en un 41.6% en un grado mínimo y el 12.5% en un grado leve, fibrosis en un 20.8% en grado mínimo, quistes en un 10.4% en grado mínimo e infiltración heterófila en un 35% en grado mínimo.

Lote E se observó fibrosis en un 2.08% en un grado mínimo, no encontrándose ninguna otra lesión.

#### B) Inmunogenicidad de las cepas vacunales.

El grado de protección conferida por las diferentes cepas vacunales mediante la prueba de virus-seroneutralización fué la siguiente:

La media geométrica de los títulos de virus-seroneutralización durante el experimento fué de 1.63 para el lote A, de 1.66 para el lote B, para el lote C de 2.70, para el lote D 1.36 y para el lote E fué de 0.82, los mismos que se pueden observar en los cuadros 7, 8, 9 y gráfica 1.

Estadísticamente solo se encontró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) cuando se compararon los títulos de los lotes A, B y D con el lote C

Cuadro 1. Resultado de las observaciones histológicas en el lote "A" después de la vacunación contra IBF.

L E S I O N E S <sup>a</sup>

DIAS POST VACUNACION	NECROSIS LINFOIDE	DEPLECION LINFOIDE	FIBROSIS	QUISTES	INFL. HETER.	BOLSAS LESION
1	0	0	0	0	0	0/4
3	0	0	0	0	0	0/4
5	0	1	0	0	1	2/4
7	0	1	0	0	2	3/4
9	0	1	0	0	0	2/4
11	0	2	0	0	0	2/4
13	0	2	0	0	0	3/4
15	0	1	1	0	1	3/4
17	0	0	1	0	1	3/4
19	0	2	0	0	1	4/4
21	0	1	0	0	1	4/4
23	0	2	1	0	0	3/4

a) Se clasifican como:

0 Sin cambios, 1 Mínimo, 2 Leve, 3 Moderado,  
4 Marcado, 5 Severo.

Cuadro 2. Resultado de las observaciones histológicas en el lote "B" después de la vacunación contra IBF.

LESIONES <sup>a</sup>

DIAS POST VACUNACION	NECROSIS LINFOIDE	DEPLECION LINFOIDE	FIBROSIS	QUISTES	INFL. HETER.	BOLSAS LESION
1	0	0	0	0	0	0/4
3	0	0	0	0	0	0/4
5	0	1	0	0	0	2/4
7	0	2	0	0	0	3/4
9	0	2	1	0	0	2/4
11	1	1	0	0	0	3/4
13	0	1	2	0	0	3/4
15	0	1	1	1	0	3/4
17	0	1	1	1	0	2/4
19	2	1	1	0	0	4/4
21	2	1	1	0	2	4/4
23	1	1	1	1	1	3/4

a) Se clasifican como:

0 Sin cambios, 1 Mínimo, 2 Leve, 3 Moderado,

4 Marcado, 5 Severo.

Cuadro 3. Resultado de las observaciones histológicas en el lote "C" después de la vacunación contra IBF.

LESIONES <sup>a</sup>

DIAS POST VACUNACION	NECROSIS LINFIDE	DEPLECION LINFOIDE	FIBROSIS	QUISTES	INFL. HETER.	BOLSAS LESION
1	0	0	0	0	0	0/4
3	0	0	0	0	0	0/4
5	0	2	1	1	0	2/4
7	1	1	0	2	1	3/4
9	0	1	0	1	2	2/4
11	0	1	0	1	0	4/4
13	1	2	2	1	2	3/4
15	2	3	2	1	2	3/4
17	0	1	1	0	1	4/4
19	4	1	2	1	2	3/4
21	1	2	2	1	2	4/4
23	3	3	1	2	2	4/4

a) Se clasifican como:

0 Sin cambios, 1 Mínimo, 2 Leve, 3 Moderado,  
4 Marcado, 5 Severo.

Cuadro 4. Resultado de las observaciones histológicas en el lote "D" después de la vacunación contra IBF.

L E S I O N E S <sup>a</sup>

DIAS POST VACUNACION	NECROSIS LINFOIDE	DEPLECION LINFOIDE	FIBROSIS	QUISTES	INFL. HETER.	BOLSAS LESION
1	0	0	0	0	0	0/4
3	0	0	0	0	0	0/4
5	0	1	0	0	1	2/4
7	0	1	1	1	1	2/4
9	0	2	0	0	1	3/4
11	0	1	0	0	0	2/4
13	1	1	0	0	1	3/4
15	0	1	0	0	0	4/4
17	0	2	0	1	1	3/4
19	0	1	1	0	0	4/4
21	0	1	1	0	0	3/4
23	1	0	0	0	1	4/4

a) Se clasifican como:

0 Sin cambios, 1 Mínimo, 2 Leve, 3 Moderado,

4 Marcado, 5 Severo.

Cuadro 5. Resultado de las observaciones histológicas en el lote "E".

## L E S I O N E S

DÍA	NECROSIS	DEPLECION	FIBROSIS	QUISTES	INFL.	BOLSAS
No.	LINFOIDE	LINFOIDE			HETER.	LESION
1	0	0	0	0	0	0/4
3	0	0	0	0	0	0/4
5	0	0	0	0	0	0/4
7	0	0	0	0	0	0/4
9	0	0	0	0	0	0/4
11	0	0	0	0	0	0/4
13	0	0	0	0	0	0/4
15	0	0	1	0	0	1/4
17	0	0	0	0	0	0/4
19	0	0	0	0	0	0/4
21	0	0	0	0	0	0/4
23	0	0	0	0	0	0/4

a) Se clasifican como:

0 Sin cambios, 1 Mínimo, 2 Leve, 3 Moderado,

4 Marcado, 5 Severo.

Cuadro 6. Distribución de las lesiones sobre la bolsa de Fabricio para cada uno de los lotes y para cada una de las diferentes alteraciones observadas.

LOTE	NECROSIS LINFOIDE	DEPLECION LINFOIDE	FIBROSIS	QUISTES	INFL.HETEROFILA
A	0 (0) <sup>a</sup>	29% (1) 25% (2)	18.7% (1)	(0)	16.6%(1) 6.25%(2)
B	12.5%(1) 16.6%(2)	52%(1) 10.4%(2)	37.5%(1) 8.3%(2)	16.6%(1)	6.25%(1) 8.3%(2)
C	20.8 (1) 6.2%(2) 8.3%(3) 6.2%(4)	33%(1) 18.7%(2) 14.5%(3)	20.8%(1) 27%(2)	35.4%(1) 14.5%(2)	14.5%(1) 39.5%(2)
D	14.5%(1)	41.6%(1) 12.5%(2)	20.8%(1)	10.4%(1)	35%(1)
E	(0)	(0)	2.08% (1)	(0)	(0)

a) Se clasifican como:

0 Sin cambios, 1 Mínimo, 2 Leve, 3 Moderado,

4 Mercedo, 5 Sin cambios

Cuadro 7. Promedio de los títulos de virus-seroneutralización <sup>a</sup> de los diferentes lotes durante el transcurso del experimento.

DIAS POST VACUNACION	LOTE			
	A	B	C	D
7	1.12 <sup>b</sup>	1.0	2.0	0.75
14	1.62	1.25	2.12	1.12
21	2.0	2.30	3.10	2.0
26	1.8	2.12	3.60	1.60

a) El título del virus utilizado en la prueba fué de  $10^{2.71}$  DICT 50%/0.05 ml, esto es 512.8 DICT 50%/0.05 ml.

b) Estos valores son las medias geométricas, resultado del promedio de 8 sueros/semana.

Cuadro 8. Promedio geométrico de los títulos de virus-seroneutralización<sup>a</sup> del lote testigo durante el transcurso del experimento.

DIA No.	LOTE E
7	0.8 <sup>b</sup>
14	1.125
21	0.87
26	0.5

a) El título del virus utilizado en la prueba fué de  $10^{2.71}$  DICT 50%/0.05 ml, esto es 512.8 DICT 50%/0.05 ml.

b) Estos valores son las medias geométricas, resultado del promedio de 8 sueros/semana.

Cuadro 9. Promedio geométrico general de los títulos de virus-seroneutralización de los diferentes lotes.

LOTE	TITULO VSN
A	1.63
B	1.66
C	2.70
D	1.36
E	0.82



## D I S C U S I O N

El lote testigo (E), por los hallazgos observados histopatológicamente y en la prueba de virus-seroneutralización se comprobó que no tuvo contacto con el virus de IBF.

Las aves vacunadas contra el IBF (lotes A, B, C y D) en la duración del experimento no tuvieron contacto con el virus de campo de IBF. El estudio histopatológico indica que independientemente de las cepas vacunales que se utilizaron en los lotes A, B, C y D estas cepas, poseen en mayor ó menor grado cierta patogenicidad sobre la bolsa de Fabricio y llegan a producir algunas alteraciones, aunque esto no significa que sean capaces de producir la enfermedad en los animales.

El título de anticuerpos producido por las diferentes cepas vacunales no fueron lo suficientemente altos para una protección adecuada de las aves, puesto que hasta las 3.7 semanas de edad el título en promedio fué de 1:60, si se considera que el título protector para el 40% de la parvada es de 1:100 y para el 100% es de 1:600 (24).

De las cepas vacunales utilizadas, la del lote C fué la que mostró mayor grado de patogenicidad sobre la bolsa de Fabricio puesto que llegó a producir lesiones de grado marcado. Además esta cepa produjo un título de anticuerpos más alto, aunque este no fué lo suficientemente alto para dar una protección adecuada a los animales. Por lo que corresponde a las cepas vacunales de los lotes A, B y D las alteraciones que se observaron al estudio histopatológico fueron en un grado leve y la producción de anticuerpos estimulados por dichas cepas vacunales no hubo diferencias significativas entre cada una de ellas. Al igual que la cepa del lote C, los títulos estimulados de anticuerpos se mantuvieron por debajo del título protector siendo más bajos que la cepa del lote C (ver gráfica 1).

## C O N C L U S I O N E S

- 1.-El grado de lesión producida por la cepa vacunal de IBF sobre la bolsa de Fabricio es directamente proporcional al título de anticuerpos producidos.
- 2.-Las lesiones producidas sobre la bolsa de Fabricio se hicieron evidentes hasta el 5<sup>o</sup> día post-vacunación.
- 3.-El título de anticuerpos producidos por las cepas vacunales utilizadas en este trabajo, indicaron que dichas cepas no mostrarán un título de protección adecuado y por lo tanto un grado seguro de confiabilidad.
- 4.-Las cuatro cepas utilizadas en este trabajo, en mayor ó menor grado produjeron lesiones sobre la bolsa de Fabricio, a pesar de que los laboratorios que las producen indican lo contrario, por lo que se debe tomar en cuenta las posibles consecuencias de inmunosupresión que pueden producir dichas cepas.

## LITERATURA CITADA

- 1.-Amstrong,L.D.,Tabel,H.and Riddell,G.:Subclinical infectious bursal disease in commercial broiler flocks in Saskatchewan.Can.J.Comp.Med.45: 26-33 January (1981).
- 2.-Bruce,B.C.:Marek's disease and inmunosupression.Poultry digest.November:526-527 (1983).
- 3.-Charles Noriega L.M.:Análisis estadístico de los casos clínicos presentados en el Departamento de Producción Animal Aves durante los años 1972-1975.Tesis profesional FMVZ-UNAM (1977).
- 4.-Cho,B.R.and Mc.Donald T.L.:Infectious bursal disease virus further characterization with evidence for a single-stranded RNA virus.Avian dis. 24:2,423-433 (1980)
- 5.-Correa,G.P.:Algunos aspectos de la nefrosis aviaria y la enfermedad producida por el agente infeccioso de la bolsa de Fabricio en México.Tec.Pec.Méx. INIP Méx. 98-104 (1969).
- 6.-Correa G.P.:Enfermedades virales de los animales domésticos monogástricos. 4<sup>o</sup> ed. ED. FH,México (1981).
- 7.-Cosgrove,A.S.:An apparently new disease of chickens avian nefrosis.Avian dis. VI: 3, 385 (1962)
- 8.-Craig W.H.,Brewer R.N.and Edgar S.A.:Studies on infectious bursal disease in chickens: I Effect of infectious bursal disease in gnotobiotic and battery raised white leghorns. Poultry Science 59: 506-515 (1980).
- 9.-Craig,W.H.,Brewer,R.N.and Edgar,S.A.:Studies on infectious bursal disease in chickens:II Scoring microscopic lesions in the bursa of Fabricius,Thimus,Spleen and Kidney in gnotobiotic and battery raised white leghorns experimentally infected with infectious bursal disease virus.Poultry Sci.59:1006-1017 (1980).

- 10.-Craig, W.H. and Williams W.P.: The detrimental effect at vaccinating parentally immune broilers with a modified live virus vaccine for infectious bursal disease. Avian dis. 24:6 1021-1026 (1980).
- 11.-Fadly, A.M. and Nazerian K.: Pathogenesis of infectious bursal disease in chickens infected with virus at various ages. Avian dis. 27:3 714-723 (1984).
- 12.-Fadly, A.M., Winterfield, R.M. and Olander, H.J.: Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity in inclusion body hepatitis and infectious bursal disease viruses. Avian dis. 20 467-477 (1976).
- 13.-Faragher J.T. Ph.D. Thesis University of London P. 237 (1971).
- 14.-Ferran, J.B. Mc.: Estudios sobre el virus de la IBF en pollos, pavos y patos. Memorias V conv. anual ANECA/29 th Western Poultry Dis. Conf. Acapulco Gro. Méx. (1980).
- 15.-Giambrone, J.J.: Effect of early infectious bursal disease virus infection on immunity to Newcastle disease in adult chickens. Poultry Sci. 58 794-798 (1979).
- 16.-Giambrone, J.J., Swert, D.L. and Eidson, C.S.: Effect of infectious bursal disease virus on the immunological responsiveness of chicken. Poultry Sci. 56 1591-1594 (1977).
- 17.-Giambrone, J.J., Eidson, Ms. Cs., Ph., Klennen S.H., DVMPhD.: Effect of infectious bursal disease on the response of chickens to Mycoplasma synoviae, Newcastle disease virus, and infectious bronchitis virus. Am. J. Vet. res. 38:2 251-253 (1979).
- 18.-Giambrone, J.J.: Gumboro vaccines. Hard-hilling advance broiler Broiler industry. October:81-85 (1983).
- 19.-Glick R.: The thymus, bursa of Fabricius and the spleen in Avian Endocrinology. Academic Press U.S.A. (1980).

- 20.-Gordon R.F.:Enfermedades de las aves,2<sup>o</sup>ed.Editorial El manual moderno Méx.1985.
- 21.-Hirai,K.T.,Funakoshi,T.and Shimakura S.:Secuential changes in the number of surface immunoglobulin-bearing B lymphocytes in infectious bursal disease virus-infected chickens. Avian dis. 25:2 484-495 (1981).
- 22.-Hitchner,B.S.and Charles H.D.:Isolation and identification of avian pathogens.Ed.American Association of Avian Pathologist 1975.
- 23.-Hodges R.D.:The histology of the fowl.Ed. Academic Press N.Y.1974.
- 24.- Hofstald,M.S.:Disease of Poultry,Eight edition. Ed.Iowa State University Press,Iowa U.S.A. (1984).
- 25.-Ide P.R.:Comparation of gel diffusion,fluorescent antibody and virus isolation methods in experimental and natural cases of infectious bursal disease. Can.J.Comp.Med.39:April 183-190
- 26.-Kaufer I. and Yamamoto R.: Immune-complex involvement in the pathogenesis of infectious bursal disease virus in chickens.Avian dis. 23:1 219-224 (1979).
- 27.-Kaufer I.and Weissoto.E.:Electro-microscope studies on the pathogenesis of infectious bursal disease after intrabursal application of the causal virus.Avian dis. 20:3 483-495 (1976).
- 28.-Ley,D.H.,Yamamoto R.and Bickford A.A.:The pathogenesis of infectious bursal disease serologic,histopathologic;and clinical chemical observations.Avian dis. 27:4 1060-1084 (1983).

- 29.-Li-Wei Jen.and Cho B.R.:Effects of infectious bursal disease on Marek's disease vaccination;supression of anti-viral immune response.Avian dis. 24:4 896-905 (1980).
- 30.-Lensing H.H.:Gumboro disease.Neth.J.Vet.Sci.2:2 117-124 (1969).
- 31.-López Coello C.:Análisis estadístico de los casos clínicos presentados en el Departamento de Producción Animal Aves durante los años 1969-1971.Tesis profesional FMVZ-UNAM (1977).
- 32.-Lucio,B.M.:La infección de la bolsa de Fabricio. V Ciclo internacional de conferencias sobre avicultura Colegio de Postgrado INIP (1980).
- 33.-Lucio.B.M. and Hitchner S.B.: Response of Mibolerone-Treated chickens to infectious bursal disease virus.Avian dis 24:2 339-342 (1980).
- 34.- Mc.Dougald,L.N.,Karlson T.and Reid W.M.:Interaction of infectious bursal disease and coccidiosis in layer replacement chickens.Avian dis. 24:4 999-1005 (1980).
- 35.-Mc.Manus J.F.M.D.and Mowry N.D.:Staining Methods Histological and histochemical.
- 36.-Naqi S.A.,B.VSc,PhD.,and Miller D.L.:Morphologic changes in the bursa of Fabricius of chickens after inoculation with infectious bursal disease virus,Am.J.Vet.R&s. 40:8 1134-1139 (1979).
- 37.-Payne L.N.:The Lymphoid System in vol II.Ed.by Academic Press N.Y. 1974.
- 38.-Santivarrr D.,Makeswanan S.K.,Newman J.A. and Pomeroy B.S.: Effect of infectious bursal disease virus infectious on the phagocytosis of staphylococcus aureus by mononuclear phagocy

tic cells of susceptible and resistant strains of chickens.: Avian dis 24:2 303-311 (1980).

39.-Sivanandan and Maheswaran S.K.:Immune profile of infectious bursal disease.I Effect of infectious bursal disease virus on peripheral blood T and B lymphocytes of chickens.Avian dis. 24:3 715-725 (1980).

40.-Skeeles, J.K., Luckert P.D., De Buysscher E.V., Fletcher C.J. and Brown J.:Infectious bursal disease viral infections.I.Complement and virus-neutralizing antibody response following infection of susceptible chickens.Avian dis, 23:1 95-105 (1979).

41.-Skeeles J.K., Luckert P.D., De Buysscher E.V., Fletcher C.J. and Brown J.:Infectious bursal disease viral infections.II The relationship of age, complement levels, virus-neutralizing antibody, clotting and lesions.Avian dis.23:1 107-116 (1979).

42.-Skeeles J.K. and Luckert P.D.:Studies with an attenuated cellculture adapted infectious bursal disease virus.Replication sites and persistence of the virus in Specific-pathogen-free chickens.Avian dis. 24:1 43-47 (1980).

43.-Tizard, R.I.:Inmunología veterinaria 1<sup>o</sup>ed. Ed. Interamericana Méx.1979.

44.-Valdés L.E.:Estudio clínico patológico y por inmunofluorescencia de la infección de la bolsa de Fabricio.Vet.Méx. 2:3 (1973).

45.-Winterfield R.W., Hitchner S.B.:Etiology of infectious nephrosis-nephrosis syndrome of chickens.AmJ.Vet.Res. 23:1 1273-1279 (1969).

46.-Winterfield R.W. and Thacker H.L.:Immune response and pathogenicity of different strains of infectious bursal disease virus applied as vaccines.Avian dis. 22:4 721-731 (1978).

47.-Wyeth P.J.: Effect of infections bursal disease on the response of chickens to S.typhymurium and E.coli infections.

Vet.res.96 238-243 (1975).

48.- Wyeth P.J.:Passevely transferred immunity to IBD following live vaccination of parent chickens by two different routes, Vet.Rec 29 289-290 (1980).