

01621
63



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACION DE LESIONES Y RESPUESTA INMUNITARIA
HUMORAL EN AVES LIBRES DE PATOGENOS ESPECIFICOS
DE 4 SEMANAS POR LA INFECCION CONTROLADA CON
LA CEPA VARIANTE UNAM 2001-2 DEL VIRUS DE
BRONQUITIS INFECCIOSA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

TERESA OLIVARES HERNANDEZ

ASESORES:

MVZ. NESTOR LEDESMA MARTINEZ

MVZ. TAMAS FEHERVARI BONE



MEXICO, D. F.

2003



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 esta 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.

PAGINACION

DISCONTINUA

Journal of Management Studies, 2010, 43(1), 1–12
DOI: 10.1080/00220821.2009.338911

**Sé esclavo de tu sueño, pero
libre para seguir tu
camino.**

Anónimo

DEDICATORIAS

A mis padres:

Jorge y María Elena

Por darme la vida y la libertad para disfrutarla. Por enseñarme a afrontar y ser feliz con las consecuencias de cada una de mis decisiones. Los amo, gracias por todo el amor, la confianza, la comprensión y el apoyo que me regalaron para hacer posible que hoy este sueño sea una realidad.

A mis hermanos:

Jorge Luis y Laura Angélica

Perdón por los años de ausencia, también los extraño. Deseo que estén orgullosos de mí, como lo estoy de ustedes. Estoy agradecida con la vida, por tenerlos conmigo y por haber crecido juntos. José Abel, aunque ya no estés con nosotros te recordamos con amor, ojalá te hubieras quedado más tiempo.

A mis amigos:

Daniela: Por ser mi cómplice, confidente y amiga durante años. Son tantas las cosas que nos unen que sería una misión imposible dejar de quererte. Te llevó en mi corazón. A Chucho por tus apapachos y comentarios siempre tan atinados que me hicieron reír y que aún siguen haciéndolo. A Alonso por cuidarme y estar conmigo. A Víctor por ayudarme con mis cabras, aunque lo dudes, te quiero. A Carlos por los ánimos que me diste cuando lo necesite. A Luis y Alma por su compañía.

Gracias por todas y cada una de las pequeñas y grandes cosas por las que hemos reído y llorado. Y aunque nuestras vidas tomen rumbos diferentes, confío que en algún momento nuestros caminos vuelvan a coincidir

Finalmente a ti, que serás mi compañera, porque todo lo que he hecho y lo que me falta por hacer es para poder darte lo mejor.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de becas para tesis de licenciatura (PROBETEL) por la beca otorgada.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme el honor de pertenecer a sus egresados.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por los instantes inolvidables que en ella viví.

A todos y cada uno de los profesores involucrados en mi formación académica.

A mi tío Higinio por el apoyo y confianza que me brindó durante estos años. Siempre estaré en deuda contigo.

A mis asesores Dr. Nestor Ledesma y Dr. Tamas por compartirme sus conocimientos y ayudarme a realizar este trabajo.

Del Departamento de Producción Animal: Aves a todos los académicos que lo conforman, en especial a la Dra. Gabriela Gómez, Dra. Norma Calderón, Dra. Teresa Casaubon, Dr. Rubén Merino y al Dr. José Antonio Quintana.

Por supuesto a mis compañeros y amigos del laboratorio de biología molecular (Aída, Mónica, Jorge y Mireya) por su colaboración en el desarrollo de este trabajo. Gracias por ser tan buenos compañeros a José, Marcelo y Elizabeth.

A mis tíos: Fidel, Manuel, Agustín Vicky, María Luisa y Magdalena, por creer en mí siempre.

A mis primos Mario, César, Yair y Fernando por cuidarme y quererme como a una hermana. Gracias por todos los besos, abrazos y sonrisas que me han dado los más pequeños de mi familia: Elymon, David, Daniel y Aimee.

A mis papás por haberme dado una familia tan bonita, por estar juntos. Por todo su esfuerzo y todas sus enseñanzas.

A la familia de mi amiga Daniela: Sr. Esteban, Sra. Silvia, Alma y Esteban por abrirme las puertas de su casa y de su corazón. Sra. Silvia con nada del mundo puedo agradecerle todo el cariño que me ha ofrecido y mucho menos por quererme como a una más de sus hijas. La quiero, la admiro y la respeto.

A mis queridos amigos de la Preparatoria Oficial "A": Edgar, Evelín y Juan Alberto, porque fue un placer compartir con ustedes unos de los años más maravillosos de mi vida.

Y por supuesto a una de mis personas favoritas: Rubén, no necesito palabras pues de sobra sabes el lugar que ocupas en mi vida.

Finalmente a la vida y a la libertad que poseemos para disfrutarla.

TABLA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
DEDICATORIAS.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVO.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	7
RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIONES.....	19
REFERENCIAS.....	20

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Página

Cuadro 1.-Título de anticuerpos	24
Cuadro 2.-Frecuencia de lesiones.....	24
Figura 1.-Tráquea 12horas PI.....	29
Figura 2.-Traqueitis linfocitaria 24 horas PI.....	29
Figura 3.-Desprendimiento epitelial y traqueitis linfocitaria.....	30
Figura 4.-Tráquea-Hiperplasia de células caliciformes.....	30
Figura 5.-Tráquea- Metaplasia escamosa	31
Figura 6.-Pulmón-Bronconeumonía grave.....	31
Figura 7.-Nefritis intersticial 168 horas PI.....	32
Figura 8.-Nefritis intersticial 336 horas PI.....	32
Figura 9.-RT- PCR bronquitis infecciosa aviar.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS

BI	Bronquitis infecciosa
DIEP50%	Dosis infectante embrión de pollo 50%
PI	Posteriores a la inoculación
ALPES	Aves libres de patógenos específicos
VSN	Virus suero neutralización
HI	Inhibición de la hemoaglutinación
RT-PCR	Transcriptasa reversa-reacción en cadena de la polimerasa
RFLP	Análisis del polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción

RESUMEN

OLIVARES HERNÁNDEZ TERESA. EVALUACIÓN DE LESIONES Y RESPUESTA INMUNITARIA HUMORAL EN AVES LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS DE 4 SEMANAS POR LA INFECCIÓN CONTROLADA CON LA CEPA VARIANTE UNAM2001-2 DEL VIRUS DE BRONQUITIS INFECCIOSA (Bajo la dirección de MVZ. MC. Néstor Ledesma Martínez y Dr. Tamas Fehérvári Bone)

La bronquitis infecciosa es una enfermedad viral de distribución mundial altamente contagiosa que puede afectar el aparato respiratorio, urinario y reproductivo de las aves. El termino BI se aplica a tres síndromes de gran importancia como son la bronquitis, nefritis y problemas en el oviducto de las gallinas, que afectan la producción de huevo. El propósito de este estudio fue evaluar los signos clínicos, lesiones histológicas y respuesta inmunitaria humoral en aves libres de patógenos específicos de cuatro semanas de edad que fueron inoculadas con la cepa variante UNAM2001-2 del virus de bronquitis infecciosa. Se utilizaron 63 aves que fueron separadas en dos grupos. Grupo A) 45 aves inoculadas intraocularmente con 0.2 ml de 10^6 D₁₀EP50%/ml del material infectante y grupo B) con 18 aves inoculadas intraocularmente con SSF estéril y que fueron utilizadas como grupo testigo negativo. A las 12, 24, 36, 48, 72, 96, 168, 336 y 504 horas PI fueron sacrificadas 5aves del grupo infectado y 2 del grupo testigo negativo. Se tomaron muestras de cornetes nasales, tráquea, pulmón y riñón las cuales se fijaron en formalina amortiguada al 10% con un pH de 7 para su posterior proceso con la técnica de inclusión en parafina y la tinción H-E, se tomaron muestras de sangre para obtención de suero de las aves del grupo A y del grupo B y se realizó la prueba ELISA. No hubo mortalidad ni signos en las aves del grupo B, en las aves del grupo A no se observaron signos clínicos aparentes durante las primeras 12 horas, sin embargo hacia las 72 horas PI las aves mostraron depresión, plumas erizadas y tremor muscular. Al estudio histológico las lesiones más relevantes que se encontraron en tráquea, pulmón y riñón a partir de las 24 horas PI con la cepa variante UNAM2001-2 fueron pérdida de cilios y traqueitis linfocitaria de moderada a grave, hiperplasia de células caliciformes y nefritis intersticial hacia las 48 horas y metaplasia escamosa del epitelio respiratorio a las 96 horas PI. La regeneración de estas lesiones se observó a partir del día 14 después de la infección. Estos resultados coinciden con los hallazgos descritos previamente con las cepas tradicionales del virus de BI, sin embargo, las lesiones sugieren que el virus pudiera ser nefrotropo. Aunque la prueba ELISA detecto anticuerpos en las aves del grupo A desde las 168 horas PI no se tiene la certeza de que estos anticuerpos sean neutralizantes para la cepa variante UNAM2001-2. Por lo que se requieren otros estudios con esta cepa que permitan caracterizarla con mayor precisión.

INTRODUCCIÓN

La bronquitis infecciosa (BI) es una enfermedad viral aguda causada por un coronavirus de distribución mundial altamente contagiosa que puede afectar el aparato respiratorio, urinario, reproductivo y muscular de las aves. ¹ Todas las edades son susceptibles pero la enfermedad es más grave en pollitos recién nacidos en donde las principales pérdidas económicas que se reportan son por la mortalidad debida a la formación de un tapón de material caseoso en la tráquea, que les produce asfisia, además de la presencia de signos respiratorios que permiten la interacción de patógenos secundarios, principalmente *Escherichia coli* y *Mycoplasma* spp. La infección combinada da como resultado un cuadro grave caracterizado por aerosaculitis, pericarditis y perihepatitis. ^{1,2, 3}

En aves jóvenes se caracteriza por provocar un cuadro respiratorio agudo con estertores traqueales, estornudos, lagrimeo, secreción nasal y disnea. Las aves adultas en postura muestran menos signos respiratorios que las aves jóvenes; sin embargo, sufren un descenso del 3 al 10 % en la producción de huevo así como la reducción de la calidad externa e interna del mismo. El virus de la bronquitis infecciosa no se transmite a través del huevo, pero su difusión horizontal es rápida. La enfermedad tiene un período de incubación de 18 a 36 horas y los signos clínicos por lo general persisten por 14 días aproximadamente. ¹

El termino bronquitis infecciosa se aplica cuando menos a 3 síndromes de gran importancia como son la bronquitis, nefritis y los problemas en el oviducto de las gallinas que afectan la producción de huevo. ^{1,2} Los 3 varían en su gravedad dependiendo de una serie de factores relacionados tanto con el virus como con el huésped.

Por ejemplo, las diversas cepas del virus varían en patogenicidad y en tropismo tisular, lo cual afecta la gravedad de la enfermedad.¹

Los factores genéticos y el estado inmunológico de las aves, incluida la exposición a agentes inmunosupresores (por ejemplo, los virus de anemia infecciosa, infección de la bolsa de Fabricio, enfermedad de Marek, leucosis linfoide, y aflatoxinas como la B1) que ejercen una influencia significativa sobre los resultados de la enfermedad.^{3,4}

La bronquitis infecciosa fue descrita por primera vez en Dakota del Norte (EUA) en 1931 por Schalk y Hawn. El agente etiológico de esta enfermedad fue aislado por Beaudette y Hudson en 1937 y después de unos cuantos años la enfermedad se reportó en muchas otras partes de Estados Unidos y actualmente se sabe que existe en todo el mundo.^{1,3,5}

El primer reporte en México del aislamiento del virus de bronquitis infecciosa fue en el año de 1962 por Moreno, ese mismo año se detecta por primera vez la presencia de anticuerpos neutralizantes en parvadas de distintas áreas del país. En 1969 se realiza la detección y diferenciación de subtipos de bronquitis infecciosa por medio de la prueba de inmunofluorescencia, conociéndose desde entonces la presencia del virus tipo Massachusetts y Connecticut.⁴

Actualmente en México la bronquitis infecciosa es un problema frecuente en granjas de pollo de engorda, reproductoras y aves de postura en las cuales se ha diagnosticado el padecimiento incluso en aves vacunadas, lo que le confiere una gran importancia económica.^{1,6}

El agente causal de la bronquitis infecciosa es un miembro de la familia *coronaviridae* que incluye dos géneros, el *coronavirus* y el *torovirus*. Es un virus ARN envuelto que contiene 3

proteínas principales específicas: la glucoproteína de la espícula (S), de membrana (M) y la proteína de la nucleocápside (N). La proteína S tiene 2 subunidades S1 y S2 consistentes en unos 520 a 625 aminoácidos respectivamente. ¹

La proteína S1 es la más diversa y funcionalmente la más significativa pues es la que tiene la mayor capacidad de inducir la producción de anticuerpos neutralizantes, los cuales tienen una importancia particular por ser responsables en la protección específica contra los diferentes serotipos. Esto es debido a que los cambios en los aminoácidos que componen la proteína S1 dan origen a los distintos serotipos, también existe evidencia de que esta proteína está involucrada en el tropismo tisular del virus. ^{1, 3, 4}

El análisis molecular de la proteína de la espícula del virus de BI, ha mostrado que un serotipo nuevo puede surgir como resultado de un sólo cambio en la composición de aminoácidos de la proteína de la espícula, particularmente si éstos cambios ocurren en las regiones hipervariables. Esas partículas que tienen diferente la estructura de S1 tienen una ventaja selectiva y puede infectar pollos que han sido expuestos a otros virus de BI. En consecuencia es posible el desarrollo de la enfermedad en aves vacunadas. ³

La variación antigénica entre los virus de BI se produce mediante dos mecanismos: mutación y recombinación. La mutación del virus de BI es la que ocurre con mayor frecuencia. La recombinación, se realiza en la cadena positiva de ARN, cuando existen dos partículas de virus de BI diferentes en la misma célula al mismo tiempo. El virus de BI es muy infeccioso y se puede difundir entre los pollos en forma individual y entre grupos de aves súbitamente. La capacidad del virus para persistir por mucho tiempo en el ave, es otro factor importante que facilita el surgimiento de cepas variantes. ^{3, 5}

Tradicionalmente la identificación del virus se ha realizado mediante métodos serológicos, las dos pruebas utilizadas con mayor frecuencia en laboratorios de diagnóstico son: la prueba de virus suero neutralización (VSN) y la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH), las cuales permiten determinar el serotipo el virus. ¹¹Otra técnica utilizada para el diagnóstico de la enfermedad es la prueba ELISA, sin embargo, tiene la desventaja de que no diferencia entre los serotipos del virus de bronquitis infecciosa. Actualmente el uso de técnicas relativamente nuevas como el RT-PCR (transcriptasa reversa-reacción en cadena de la polimerasa), RFLP (análisis el polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción) y secuenciación nucleótidos permiten tener un diagnóstico más específico para la identificación de las cepas del virus de bronquitis infecciosa. ⁷

Recientemente en México se ha reportado la existencia de dos cepas variantes del virus de bronquitis infecciosa: la UNAM 97 ¹⁰ y BL56 ⁸ de las cuales, también existen informes que describen los hallazgos histológicos y serológicos ocasionados por la infección de estas cepas. ^{10, 25} En estudios realizados en el Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia se logró amplificar un fragmento de 1720 pb correspondientes al gen de la glicoproteína S1 por medio de la prueba de RT-PCR a partir de líquido alantoideo positivo a virus de bronquitis infecciosa. Los fragmentos amplificados fueron digeridos con tres enzimas de restricción (*Bst*YI, *Hae*III y *Xcm*I) que permiten identificar las cepas del virus de BI. Con base en los patrones de digestión de las muestras se encontró un patrón de restricción diferente al de las cepas clásicas y variantes previamente descritas, el cual fue identificado como UNAM2001-2. ^{8, 9}

Dado que se desconoce la procedencia de esta cepa así como los efectos que tuvieron en las aves, es necesario realizar estudios para conocer la patogenicidad de esta posible variante del virus de bronquitis infecciosa aviar. Es de suma importancia realizar investigaciones en nuestro país para conocer la prevalencia de las distintas cepas que causan enfermedad, el origen de los brotes y rastrear los caminos de la infección.

OBJETIVOS

1.-Identificar y evaluar las lesiones, signos clínicos y respuesta inmunitaria humoral provocados por la cepa variante UNAM2001-2 del virus de bronquitis infecciosa en aves libres de patógenos específicos de cuatro semanas de edad.

2.-Emplear la técnica RT-PCR para detectar la presencia del virus en los animales de experimentación.

MATERIAL Y METODOS.

♣ Material infectante

Se utilizó la cepa variante UNAM2001-2* del virus de bronquitis infecciosa que fue propagada y titulada en embriones de pollo ALPES[®] de 9 días de edad mediante técnicas descritas previamente.¹¹ El inoculo de desafío tuvo un título de 10^4 D_{IEP50}/ml.

♣ Diseño experimental

Se utilizaron 63 aves ALPES[®] de cuatro semanas de edad separadas en 2 grupos de la siguiente manera:

Grupo A: 45 aves inoculadas intraocularmente con 0.2 ml del inoculo.

Grupo B: 18 aves testigo inoculadas intraocularmente con 0.2 ml de SSF.

Los grupos fueron alojados por separado, en unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, donde recibieron alimento comercial y agua a libre acceso.

* Obtenida en el DPA: Aves FMVZ UNAM

ALPES[®]: Aves Libres de Patógenos Específicos (Grupo IDISA 7 Norte No 416, Tehuacán Puebla, 75700)

A las 12, 24, 36, 48, 72, 96, 168, 336 y 504 horas posteriores a la inoculación se evaluaron los signos clínicos (estornudos, secreción nasal, lagrimeo, disnea y estertores traqueales) y se registró el porcentaje de aves afectadas.

✦ Serología

Después de cada inspección clínica se tomaron muestras de sangre para la obtención de suero de 5 aves del grupo A y 2 del grupo B para realizar la prueba ELISA^a utilizando un juego de reactivos comercial sensibilizado con la cepa Mass del virus de bronquitis infecciosa.

Después de diluir los sueros 1:50 en una microplaca de titulación, 50 µl de cada muestra fueron transferidos a la placa de ELISA donde previamente se colocaron 50 µl de amortiguador de dilución (dilución final 1:100). Después de 30 minutos de incubación y un proceso de lavado de la placa, a cada pozo se agregó 100µl de conjugado (IgG de cabra anti pollo conjugada con enzima peroxidasa); después de 30 minutos de incubación y otro lavado se agregó 100 µl del sustrato en cada pozo. Transcurridos 15 minutos se colocó 100 µl de la solución inhibidora en cada pozo para detener la reacción. La placa fue leída en un lector de placas ELISA Dynatech MR650 con el filtro de 405 nm. Los valores de densidad óptica de cada muestra fueron transferidos al programa de computadora ProFILE for Windows®. En este sistema la intensidad del color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra.

^a IBV ProFlock. SYNBIOTICS CORP. 11011. Vía Frontera, San Diego CA 92117USA

• Histopatología

Después de evaluar los signos clínicos y de la toma de muestras de suero para serología las aves se sacrificaron mediante una sobredosis de pentobarbital sódico vía intravenosa¹² Se realizó la necropsia mediante la técnica descrita¹³ y se recolectaron secciones de cornetes nasales, tráquea, pulmón y riñón las cuales fueron conservadas en formalina amortiguada al 10% con un pH de 7. Se procesaron por la técnica de inclusión en parafina y se tiñeron por la técnica de hematoxilina y eosina.¹⁴

Se llevó a cabo la observación por medio de un microscopio fotónico y se registraron las lesiones compatibles con bronquitis infecciosa aviar como: pérdida de cilios, traqueitis con infiltración linfocitaria, rinitis, necrosis, hiperplasia de células caliciformes, metaplasia escamosa, bronconeumonía y nefritis con infiltración linfocitaria.^{15, 16} El grado de la lesión en el órgano se considero leve cuando se presentó en un 10% o menos; moderado entre un 10 y 40% y grave cuando la lesión afectó más del 40%.

• RT-PCR

Con el objeto de verificar la infección en las aves por el desafío con la cepa UNAM2001-2 en cada muestreo se tomaron adicionalmente secciones de tráquea, pulmón y riñón para realizar la técnica de RT-PCR⁹. Las muestras se trabajaron de manera individual y se identificaron de acuerdo con la hora posterior a la inoculación. El ARN fue purificado a partir de un macerado de los órganos recolectados en cada muestreo mediante la técnica descrita.¹⁷ Este ARN se utilizó para obtener ADN complementario mediante la técnica de RT-PCR el cual sirvió como molde en la reacción de PCR para amplificar un fragmento de 1720pb correspondiente al gen de la glicoproteína S1 y así verificar la infección en las aves por el virus de desafío.

Se utilizó el iniciador degenerado 5´ ATTTTCAGTAAAYAGAACGTCTA 3´ a 250ng/µl. En un tubo de PCR de 200µl puesto en hielo fueron agregados 5 µl del RNA, 1µl de dntp´s 10 mM de cada base y agua cbp 8µl. La muestra fue calentada a 65º C por 5 min., después se agregó 1x de amortiguador RT, 1µl de DTT 0.1M y 1µl de inhibidor de RNAsa, la muestra fue calentada a 42º C por 2 minutos y posteriormente se agregó 1µl de la enzima Superscript II, la muestra fue calentada a 42º C por 50 minutos y posteriormente a 70º C por 15 minutos para detener la reacción de RT.

Con el cDNA así obtenido se llevó a cabo la reacción de PCR mezclando en un tubo de 200µl puesto en hielo lo siguiente: 5µl de cDNA, 2µl de amortiguador D10x, 2µl de dntp´s 2mM, 1µl de iniciadores 10mM 5´GACMGACTTAGTMKTTAATTA 3´(sentido) y 5´ ATTTTCAGTAAAYAGAACGTCTA 3´(reversa), 1µl de tritón 2%, 0.3µl de BSA 10mg/ml, 0.5µl de Taq 50/µl y agua cbp 20µl.

En *termociclador las condiciones fueron: Una desnaturalización inicial a 94º C por 3 minutos, 30 ciclos de 94º C por 30 segundos, 44º C por 30 segundos y 72º C por 2 minutos. Finalmente un ciclo a 72º por 5 minutos para extensión final.

Los productos de PCR fueron corridos en un gel de agarosa al 1% por 40 minutos a 100 volts. Fue agregado un marcador de 500 pb para determinar el tamaño del producto de PCR. El gel fue teñido en bromuro de etidio y visualizado en un transiluminador de luz ultravioleta.

* ThermoHybaid PCR Express

RESULTADOS

♣ Evaluación de signos clínicos.

Durante las primeras 12 horas PI no se observaron signos clínicos aparentes en el grupo A. Hacia las 72 horas el 32% de las aves mostraron signos clínicos inespecíficos tales como depresión, plumas erizadas y tremor muscular. Sin embargo a partir de las 96 horas posteriores a la inoculación y hasta el final del experimento, estos signos desaparecieron gradualmente.

El grupo B permaneció sin cambios.

♣ Hallazgos a la necropsia.

En el grupo A, en 5 aves se encontró espuma y exudado seroso escaso en los sacos aéreos abdominales a las 36 horas posteriores a la inoculación. En el muestreo correspondiente a la 1ª semana PI en un ave se observó neumonía y un ligero aumento de tamaño de los riñones, el resto de las aves no mostraron cambios patológicos aparentes.

El grupo B se mantuvo sin cambios.

♣ Serología

La prueba ELISA detectó anticuerpos contra la cepa UNAM2001-2 del virus de bronquitis infecciosa a partir de las muestras de suero del grupo A correspondientes a las 168 horas (1ª semana), 336 horas (2ª semana) y 504 horas (3ª semana) posteriores a la inoculación. En las aves del grupo B no se detectaron anticuerpos.

Los resultados de la prueba ELISA para bronquitis infecciosa se presentan en el cuadro 1.

♣ **Histología.**

Los hallazgos histopatológicos encontrados en las muestras de cornetes nasales, tráquea, pulmón y riñón del grupo A fueron :

-12 horas PI: Sin cambios significativos (figura 1).

-24 horas PI: Pérdida de cilios, desprendimiento del epitelio traqueal grave y traqueitis con infiltración linfocitaria de moderada a grave en vías respiratorias altas (figura 2).

-36 horas PI: Pérdida de cilios, desprendimiento del epitelio traqueal de leve a moderado. traqueitis con infiltración linfocitaria grave en vías respiratorias altas (figura 3).

-48 horas PI: Rinitis con infiltración linfocitaria moderada. Pérdida de cilios de grave a moderada, desprendimiento del epitelio traqueal moderado. traqueitis con infiltración linfocitaria grave. (figura 5) hiperplasia de células caliciformes moderada en vías respiratorias altas y nefritis intersticial leve.

-72 horas PI: Pérdida de cilios, traqueitis con infiltración linfocitaria de moderada a grave, hiperplasia de células caliciformes y metaplasia escamosa en vías respiratorias altas. En vías respiratorias bajas se encontró una traqueitis con infiltración linfocitaria y pérdida de cilios de leve a moderada (figura 6).

-96 horas PI: Traqueitis con infiltración linfocitaria grave y metaplasia escamosa moderada en vías respiratorias altas. Traqueitis con infiltración linfocitaria y pérdida de cilios moderada en vías respiratorias bajas.

-1ª semana (168 horas) PI: Traqueitis con infiltración linfocitaria, pérdida de cilios y metaplasia escamosa moderada en vías respiratorias altas. Traqueitis con infiltración linfocitaria leve y pérdida de cilios grave en vías respiratorias bajas. Bronconeumonía grave y nefritis intersticial moderada (figura 7).

-2ª semana (336 horas) PI: Traqueítis con infiltración linfocitaria, hiperplasia de células caliciformes y metaplasia escamosa moderada en vías respiratorias altas. Nefritis intersticial de moderada a grave (figura 8).

-3ª semana (504 horas) PI: Hiperplasia de células caliciformes y metaplasia escamosa leve en vías respiratorias altas. Metaplasia escamosa leve en vías respiratorias bajas.

***Los resultados del estudio histopatológico se presentan con detalle en el cuadro 2**

♣ RT-PCR

La prueba de RT-PCR para amplificar un fragmento de 1720 pares de bases correspondiente al gen de la proteína S1 del virus de BI resultó positiva en todas las tomas de muestra del grupo inoculado, (figura 9) mientras que los controles resultaron negativos.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que aunque los signos clínicos que se presentaron en las aves inoculadas con la cepa variante UNAM2001-2 no fueron los característicos para la enfermedad de bronquitis infecciosa aviar, las lesiones observadas en el aparato respiratorio y urinario de las aves coinciden con las descritas previamente con las cepas tradicionales.^{1, 15, 16, 18} La mayoría de las cepas del virus de BI inducen lesiones histológicas en la tráquea sin llegar a ser causa de mortalidad, las más consistentemente descritas son: pérdida de cilios, degeneración y desprendimiento del epitelio traqueal, infiltración de linfocitos y heterófilos en la lámina propia que comienza a aparecer a las 24 horas posteriores a la inoculación, así como hiperplasia epitelial evidente a partir de las 48 horas posteriores a la inoculación.

Sin embargo, estas lesiones son reparadas casi completamente dentro de la 2ª y 3ª semana después de la infección.^{18, 19, 20} Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en este estudio en donde las aves inoculadas con la cepa variante UNAM2001-2 a las 12 horas posteriores a la inoculación no mostraron cambios aparentes en cornetes nasales, tráquea, pulmón y riñón; sin embargo, hacia las 24 horas los hallazgos más relevantes fueron pérdida de cilios y traqueitis con infiltración linfocitaria de moderada a grave en el 100% de las aves en vías respiratorias altas. La pérdida de cilios del epitelio traqueal fue observada del día 1 al 7 posterior a la inoculación y la regeneración de las células epiteliales comenzó a ser más evidente a partir del día 14 y hasta el día 21 en vías respiratorias altas.

La metaplasia escamosa en vías respiratorias altas apareció al día 3 PI de forma leve incrementando el grado de moderada a grave al día 14 PI, y mostrando una recuperación hacia el día 21 PI.

Este patrón se repitió en las vías respiratorias bajas pero con la diferencia de que la pérdida de cilios del epitelio traqueal comenzó a las 48 horas posteriores a la inoculación.

Los cambios en el epitelio de la tráquea observados por la técnica de H-E en este experimento fueron similares a los descritos previamente.^{19, 20} Sin embargo, la cepa variante UNAM2001-2 bajo las condiciones de manejo de este estudio no indujo signos clínicos, lesiones macroscópicas ni mortalidad grave en las aves desafiadas, además de que las lesiones más importantes se localizaron en vías respiratorias altas durante las primeras horas posteriores a la inoculación y en las vías respiratorias bajas después de 48 horas posteriores a la inoculación. En otros estudios ha sido descrita mortalidad elevada pero en combinación con otros agentes, principalmente bacterianos.^{16, 18}

Reportes previos señalan que algunas cepas como la T(N/62) (Australia), Holte y Gray (EUA), B1648 (Bélgica) y A223-74 (Italia) reconocidas como cepas nefropatógenas, son capaces de causar lesiones histológicas tanto en tráquea como en riñón en el que ocasionan nefritis intersticial, degeneración granulosa y desprendimiento del epitelio tubular.^{1, 15, 21, 22}

En este estudio se observó que la cepa variante UNAM2001-2 fue capaz de inducir nefritis intersticial leve, que fue evidente del 1º al 4º día posterior a la inoculación, incrementando el grado de moderada a grave hacia el día 7 y 14 después de la infección y

posterior a este día y hasta el final del experimento continuo presente en todas las aves aunque en un grado leve.

Estos hallazgos sugieren que la cepa UNAM2001-2 tiene la habilidad de producir lesiones en el aparato respiratorio y urinario de las aves, por lo cual pudiera ser agrupada dentro de los virus nefrotropos. En México, las cepas reconocidas oficialmente no son nefrotropas, a excepción de la BL-56 la cual ha sido asociada con lesiones renales en condiciones experimentales.^{23,24}

En México se ha reconocido de manera oficial la existencia de dos cepas variantes del virus de bronquitis infecciosa, la UNAM 97 por Escorcía y colaboradores en 1996 la cual, además de inducir un cuadro respiratorio moderado y las lesiones ocasionadas por las cepas tradicionales, es capaz de producir lesiones gástricas y renales en el embrión de pollo que no se habían reportado con otras cepas de bronquitis infecciosa,^{10, 22, 23} la otra cepa es la BL-56 reportada en 1998, la cual tiene la capacidad de producir daño renal y respiratorio en aves sometidas al desafío experimental.^{23, 24} Sin embargo, hasta el momento no existían reportes sobre los efectos producidos en las aves a consecuencia de la infección con la cepa variante UNAM2001-2.

En el presente estudio, a pesar de que los resultados en la evaluación de los signos clínicos que presentaron las aves del grupo infectado difieren de los descritos como característicos para BI,^{1, 15, 17} las lesiones histológicas encontradas en cornetes nasales, tráquea y riñón coinciden con las reportadas con las cepas tradicionales. Por ello no se descarta la posibilidad de que el campo avícola nacional este frente a nuevas variantes del virus de bronquitis infecciosa con características antigénicas diferentes a las conocidas hasta hoy y con tendencia a ser de tipo nefrotropas.

En el estudio de la respuesta inmune humoral ha sido descrita la reactividad cruzada, total o parcial con algunas cepas y por otra parte no siempre es en un solo sentido,^{5,7} en el presente estudio, pudiera estar participando este fenómeno ya que se sabe que en el suero de aves infectadas en forma natural con cualquier cepa de bronquitis infecciosa se encuentran anticuerpos contra las proteínas N y M comunes entre una cepa y otra, además de que hay anticuerpos contra las proteínas S1 y S2, estos anticuerpos pueden reaccionar en forma cruzada aunque exista poca afinidad con los antígenos de la cepa Massachussets. ^{7, 15, 24}

Y aunque la prueba ELISA fue capaz de detectar anticuerpos a partir de las 168 horas posteriores a la inoculación en las aves del grupo A no se tiene la certeza de que estos anticuerpos sean neutralizantes para la cepa variante UNAM2001-2 ya que en la prueba, las placas se encuentran sensibilizadas con virus completo tipo Mass, de este modo los anticuerpos inducidos por el resto de las proteínas estructurales del virus de bronquitis infecciosa diferentes a la proteína S, pudieran haber sido detectados.

Dados los resultados de este estudio, se requiere realizar un análisis filogenético de la cepa UNAM2001-2 para compararla con otras cepas del virus de bronquitis infecciosa presentes en nuestro país y en otras partes del mundo con la finalidad de establecer cual fue su origen.

De acuerdo con Lozano ²⁴ y Quiroz, ²⁵ aunque no se poseen datos suficientes para conocer la forma en que surgieron estos aislamientos de cepas variantes en México, se señala que la recombinación entre distintos virus de bronquitis infecciosa, la recombinación entre cepas nativas, además de la posible introducción ilegal, en las granjas, de vacunas producidas con cepas de otro país o zona avícola, pueden ser causas que propician un medio ambiente favorable para el desarrollo de estas cepas variantes, además de que el uso de vacunas atenuadas, aunque reducen las pérdidas económicas ocasionadas por la enfermedad de bronquitis infecciosa también pueden ser responsables del surgimiento de variantes antigénicas al darse una recombinación entre cepas vacunales y de campo.

CONCLUSIONES

Este es el primer trabajo que proporciona información en México acerca de los efectos de otra cepa variante del virus de bronquitis infecciosa aviar además de la UNAM97 y la BL56.

Las lesiones descritas en la mayoría de la literatura para el virus de bronquitis infecciosa con las cepas tradicionales coinciden con las encontradas y evaluadas con la cepa variante UNAM2001-2. Cabe resaltar que bajo las condiciones en las que se llevó a cabo el estudio, esta cepa presentó una mayor capacidad para causar lesiones en el aparato urinario de las aves infectadas que en el respiratorio, por lo cual pudiera ser agrupada dentro de los virus nefrotropos, y aunque la respuesta de las aves al desafío no sugirió los signos clínicos característicos de la enfermedad de bronquitis infecciosa, ni se presentó mortalidad grave es importante continuar realizando estudios en un futuro con esta cepa, ya sea modificando las condiciones de manejo de las aves, edad, estado inmunológico, combinación del desafío con otros agentes infecciosos o bien aumentar el período de observación para analizar su comportamiento y determinar si los resultados coinciden o difieren a los descritos en el presente estudio.

El conocimiento de las características de patogenicidad e inmunogenicidad de los virus de bronquitis variantes puede ser utilizado para desarrollar nuevas vacunas o bien modificar los programas de vacunación en determinadas áreas geográficas de nuestro país, para proporcionar una mayor protección contra la enfermedad de la bronquitis infecciosa aviar.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Cavanagh DS and Naqui A. Infectious Bronchitis In. Calnek Hoffstad S, Barnes HJ, Reid WN and Yader WN. Diseases of Poultry Ames Iowa State University 2003: 511-526.
- 2.- Ignjatovic, J. and Ashton, F. Pathogenicity of Australian strains of avian infectious bronchitis virus. *Journal Comparative Pathology* 2002;126:115-123.
- 3.- Charles Jones R. Interacciones entre el virus de la Bronquitis Infecciosa y otros agentes respiratorios. *Memorias del VIII Curso de actualización Avi-Mex. Bronquitis infecciosa y problemas respiratorios emergentes.* Cd. México 1998: 22-29.
- 4.- Naqui Syed. Etiología, patogenia y diagnóstico de la Bronquitis Infecciosa. *Memorias del VIII Curso de actualización Avi-Mex. Bronquitis infecciosa y problemas respiratorios emergentes.* Cd. México 1998: 14-19.
- 5.- Cook A. Serotipos de bronquitis infecciosa y la protección cruzada entre ellos. *Memorias del curso de enfermedades respiratorias de las aves. ANECA; 1999 febrero 19; México DF. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas; 1999: 14-17.*
- 6.- Soto E. Situación actual de la bronquitis infecciosa en México. *Memorias del VIII Curso de actualización Avi-Mex. Bronquitis Infecciosa y problemas respiratorios emergentes.* Cd. México 1998: 6-13.
- 7.- De Wit J. J. Technical Review. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathology.* 2000; 29: 71-93.
- 8.- Escorcía M., Jack Wood W., Lucio B., Petrone VM., López C., Fehervari T. and Téllez G. Characterization of mexican strains of avian infectious bronchitis isolated during 1997. *Avian Dis.* 2000; 44: 944-947.

- 9.-Huerta L B., Merino R., Téllez G., Ledesma M N., Ortiz N M y Alonso R A. Caracterización molecular de cepas de bronquitis infecciosa aviar. Memorias del Segundo Congreso Nacional de Bioquímica y Biología Molecular de virus. 2002; 5s-3.
- 10.- Escorcía M., Petrone V M., Nazario F., Galindo F., Andrade M. y Téllez G. Lesiones histológicas en tráquea y pulmón ocasionadas por la infección controlada con la cepa variante UNAM97 de bronquitis infecciosa aviar, aislamiento mexicano. Memorias Convención Anual ANECA; 2000 mayo 3-6; Cancún Quintana Roo. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas; 2000: 85-87.
- 11.- Villegas P. and Graham PH. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. The American Association of Avian Pathologist. 1998: 163-169.
- 12.- Andrews E.J., Bennett B T., Clark J.D., Hawpt K A., Pascoe., Robinson GW and Bayce JR. Report of the AUMA. Panel on euthanasia veterinary medical. JAVMA. 1993: 235-239.
- 13.- Perusquía JMT y Paasch ML. Necropsias en aves. México. Ed. Trillas. 1985: 73-85.
- 14.- Estrada FE., Peralta ZL y Rivas MP. Manual de técnicas histológicas. México: AGT. Editor S.A. 1982.
- 15.- Riddel C. Avian Histopathology 2nd edition. American Association of Avian Pathologist. Tallahassee, Florida. 1996: 183-192.
- 16.-Mc Ferran JB and McNulty MS. Virus infection of birds. Elsevier Science Publishers. 1993: 247-275.
- 17.- Kwon M., Jackwood W. and Gelb J. Differentiation of infectious bronchitis virus serotypes using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. Avian Dis. 1993; 37: 194-202.

- 18.- Kotani T., Shiraishi Y., Tsukamoto Y., Kuwamura M., Yamate J., Sakuma S and Gohda M. Epithelial cell kinetics in the inflammatory process of chicken trachea infected with infectious bronchitis virus. *Journal Veterinary Medical Science* 2000; 62: 129-134.
- 19.-Fulton R M., Reed W M. and Thacker HL. Cellular response of the respiratory tract of chickens to infection with Massachusetts 41 and Australian T infectious bronchitis viruses. *Avian Dis.* 1993; 37: 951-960.
- 20.- Nakamura K., Cook J K., Otsuky K., Huggins M B and Frazier J A. Comparative study of respiratory lesions in two chicken lines of different susceptibility infected with infectious bronchitis virus: Histology, ultrastructure and immunohistochemistry. *Avian Pathology.* 1991; 20: 241-257.
- 21.- Chandra M. comparative nephropogenicity of different strains of infectious bronchitis virus in chickens. *Poultry Science* 1987; 66: 954-959.
- 22.- Escorcía MM. Caracterización molecular del virus de bronquitis infecciosa aviar aislamiento en México. Tesis de maestría en ciencias veterinarias. Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Octubre 1999.
- 23.- Gay GM., Soto PE., Suárez A., García García J., Sarfati D y Lozano DB. An overview of infectious bronchitis in México. *Proceedings of the fiftieth Western Poultry Diseases Conference.* March 24-26. University of California Davis, California.2001; 102-103.

24.-Lozano B, Gay M, Sarfati D y Soto E. Aislamiento e identificación de una posible variante o nuevo serotipo de virus de bronquitis infecciosa en México. 10º Curso de actualización Avi-Mex. Salud y Productividad Aviar. México DF. Julio 31. 1998: 80-87.

25.- Quiroz MA. Estrategias para el control de la bronquitis infecciosa aviar. Memorias Convección Anual ANECA; 1999 mayo 5-8; León Guanajuato. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas.1999: 258-259.

CUADRO 1

Título de anticuerpos contra el virus de bronquitis infecciosa determinados mediante la técnica ELISA en aves libres de patógenos específicos de 4 semanas inoculadas con el virus de bronquitis infecciosa UNAM2001-2		
1ª semana	2ª semana	3ª semana
188	1828	485
282	2172	1540
753	2701	1707
1087	4115	3035
0	0	6756
Promedio 462	Promedio 2163	Promedio 2704

CUADRO 2

Frecuencia de las lesiones producidas en pollos libres de patógenos específicos de 4 semanas de edad infectados con la cepa variante UNAM2001-2 del virus de BI a un título de 10^4 DIEP50%/0.2ml.

24 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	2/5	40
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	4/5	80
	MODERADA	1/5	20
RINON	DESPRENDIMIENTO EPITELIAL		
	GRAVE	5/5	100
	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	MODERADA	1/5	20

* Cornetes nasales, vias respiratorias bajas y pulmón sin cambios aparentes.

× Grado de lesión en el órgano: Leve 10% o menos, moderado entre 10% y 40% y grave más de 40%.

36 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	4/5	80
	LEVE	1/5	20
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	5/5	100
	DESPRENDIMIENTO EPISELLAL		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	2/5	40
RIÑON	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	LEVE	5/5	100

* Cornetes nasales, vías respiratorias bajas y pulmón sin cambios aparentes.

48 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
CORNETES NAsALES	RINITIS LINFOCITARIA		
	MODERADA	3/5	60
	LEVE	2/5	40
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	5/5	100
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	2/5	40
	DESPRENDIMIENTO EPISELLAL		
	MODERADA	4/5	80
	LEVE	1/5	20
	HIPERPLASIA DE CELULAS CALICIFORMES		
	GRAVE	2/5	40
	MODERADA	3/5	60
VIAS RESPIRATORIAS BAJAS	DESPRENDIMIENTO EPISELLAL		
	MODERADA	1/5	20
RIÑON	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	LEVE	5/5	100

* Pulmón sin cambios aparentes

x Grado de lesión en el órgano: Leve 10% o menos, moderado entre 10% y 40% y grave más de 40%.

72 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	2/5	40
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	4/5	80
	HIPERPLASIA DE CELULAS CALICIFORMES		
	MODERADA	3/5	60
VIAS RESPIRATORIAS BAJAS	METAPLASIA ESCAMOSA		
	GRAVE	2/5	40
	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
RIÑON	MODERADA	3/5	60
	LEVE	2/5	40
	PERDIDA DE CILIOS		
	MODERADA	3/5	60
RIÑON	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	LEVE	3/5	60

* Cornetes nasales y pulmón sin cambios aparentes

96 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	5/5	100
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	2/5	40
	METAPLASIA ESCAMOSA		
	MODERADA	3/5	60
	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	2/5	40
	MODERADA	3/5	60
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	2/5	40
RIÑON	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	LEVE	2/5	40

* Cornetes nasales y pulmón sin cambios aparentes.

× Grado de lesión en el órgano: Leve 10% o menos, moderado entre 10% y 40% y grave más de 40%.

168 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	GRAVE	2/5	40
	MODERADA	3/5	60
	PERDIDA DE CILIOS	2/5	40
	GRAVE	3/5	60
	METAPLASIA ESCAMOSA		
	GRAVE	2/5	40
	MODERADA	3/5	60
VIAS RESPIRATORIAS BAJAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	LEVE	3/5	60
	PERDIDA DE CILIOS		
	GRAVE	3/5	60
	MODERADA	1/5	40
	HIPERPLASIA DE CELULAS CALICIFORMES		
	MODERADA	1/5	20
	METAPLASIA ESCAMOSA		
	GRAVE	1/5	20
	MODERADA	2/5	40
PULMON	BRONCONEUMONIA LINFOCITARIA		
	GRAVE	1/5	20
RIÑON	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	GRAVE	1/5	20
	MODERADA	4/5	80

* Cornetes nasales sin cambios aparentes

336 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	TRAQUEITIS LINFOCITARIA		
	MODERADA	3/5	60
	LEVE	2/5	40
	HIPERPLASIA DE CELULAS CALICIFORMES		
	GRAVE	1/5	20
	MODERADA	4/5	80
	METAPLASIA ESCAMOSA		
	GRAVE	2/5	40
	MODERADA	3/5	60
		NEFRITIS INTERSTICIAL	
RIÑON	GRAVE	2/5	40
	MODERADA	2/5	40
	LEVE	1/5	20

* Cornetes nasales, vías respiratorias bajas y pulmón sin cambios aparentes.

x Grado de lesión en el órgano: Leve 10% o menos, moderado entre 10% y 40% y grave más de 40%.

504 horas PI

LOCALIZACION	LESION	AVES AFECTADAS	%
VIAS RESPIRATORIAS ALTAS	HIPERPLASIA DE CELULAS CALICIFORMES		
	LEVE	2/5	40
	METAPLASIA ESCAMOSA		
	LEVE	2/5	40
VIAS RESPIRATORIAS BAJAS	METAPLASIA ESCAMOSA		
	MODERADA	1/5	20
	LEVE	2/5	40
RIÑON	NEFRITIS INTERSTICIAL		
	GRAVE	1/5	20
	MODERADA	1/5	20
	LEVE	1/5	20

* Cometes nasales y pulmón sin cambios aparentes.

x Grado de lesión en el órgano: Leve 10% o menos, moderado entre 10% y 40% y grave más de 40%.

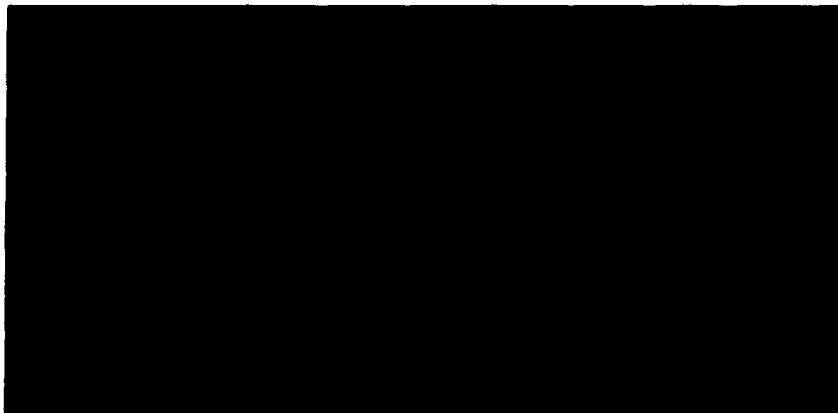


Fig. 1 Tráquea: Epitelio traqueal 12 horas PI (H&E 400x)



Fig.2 Tráquea: Pérdida de cilios y traqueitis linfocitaria grave 24hrs. PI(H&E150 X)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

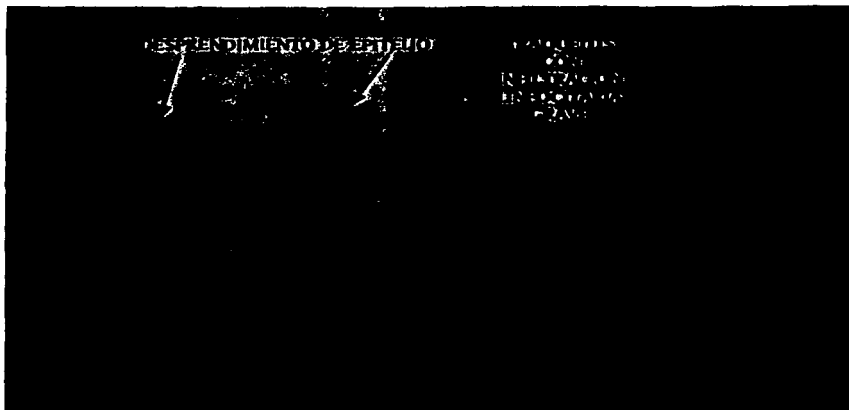


Fig. 3: Tráquea: Desprendimiento de epitelio y traqueitis linfocitaria grave 36 hrs. PI H&E 150X

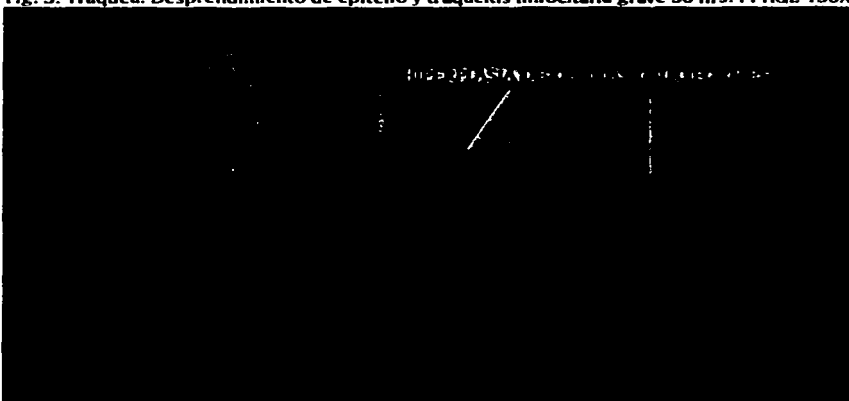


Fig. 4 Tráquea: Hiperplasia de células caliciformes moderada 48 hrs. PI (H&E 150X)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

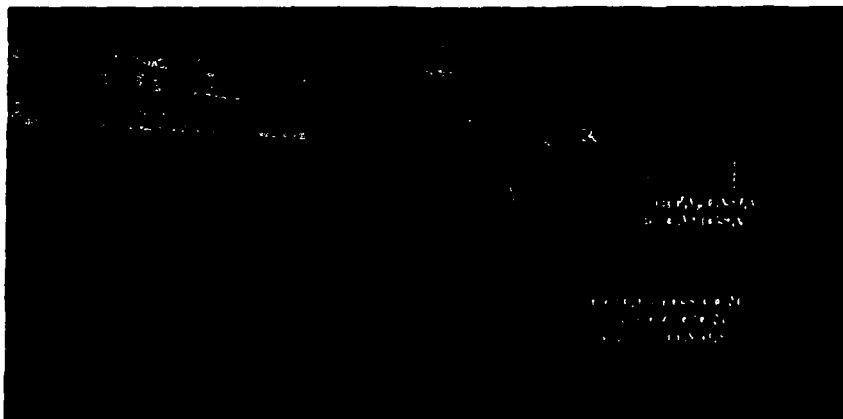


Fig. 5 Tráquea: Traqueítis linfocitaria y metaplasia escamosa moderada 96 hrs. PI (H&E 400X)



Fig. 6 Pulmón: Bronconeumonía grave 168 hrs. PI (H&E 150X)



Fig. 7 Riñón: Nefritis intersticial moderada a grave 168 hrs. PI (H&E 400 X)



Fig. 8 Riñón: Nefritis intersticial moderada a grave 336 hrs. PI (H&E 150X)

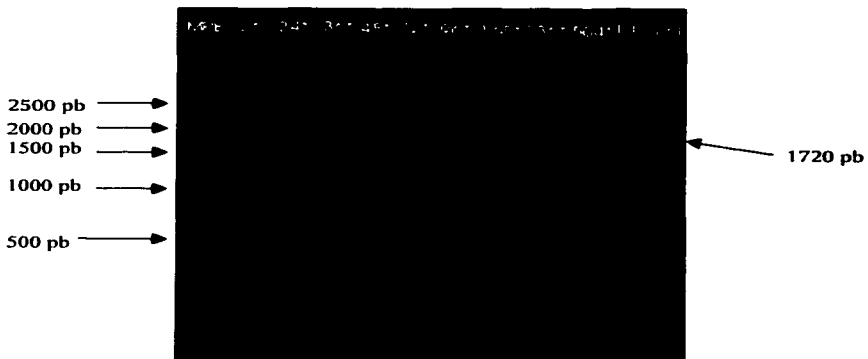


Fig. 9 Gel de agarosa mostrando un fragmento de 1720pb

MPB: Marcador de pares de bases

(-) Control negativo

(+) Control positivo

*Horas posteriores a la inoculación con la cepa UNAM2001-2 del virus de bronquitis infecciosa aviar.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**